

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 975 136**

51 Int. Cl.:

A61K 31/4427 (2006.01) **A61K 31/513** (2006.01)
A61K 31/403 (2006.01) **A61K 31/55** (2006.01)
A61K 31/4162 (2006.01) **A61P 25/00** (2006.01)
A61K 31/4166 (2006.01) **A61P 9/10** (2006.01)
A61K 31/4365 (2006.01) **A61K 31/444** (2006.01)
A61K 31/438 (2006.01) **A61K 31/506** (2006.01)
A61K 31/4439 (2006.01) **A61K 31/519** (2006.01)
A61K 31/4545 (2006.01)
A61K 31/4965 (2006.01)
A61K 31/5025 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **30.03.2016 PCT/SE2016/050264**
 87 Fecha y número de publicación internacional: **05.10.2017 WO17171594**
 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **30.03.2016 E 16897242 (0)**
 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.03.2024 EP 3436009**

54 Título: **Moduladores alostéricos negativos de MGLUR5 para uso en el tratamiento de daños cerebrales maduros**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
03.07.2024

73 Titular/es:

**SINNTAXIS AB (100.0%)
Medicon Village Scheelevägen 2
223 81 Lund, Skåne län, SE**

72 Inventor/es:

**SJÖLUND, CARIN;
BEIRUP, KERSTIN;
RUSCHER, KARSTEN;
OLSSON, ROGER y
WIELOCH, TADEUSZ**

74 Agente/Representante:

FERNÁNDEZ POU, Felipe

ES 2 975 136 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Moduladores alostéricos negativos de MGLUR5 para uso en el tratamiento de daños cerebrales maduros

5 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere al uso de Moduladores Alostéricos Negativos (NAM) del Receptor Metabotrópico de Glutamato subtipo 5 (mGluR5) en el tratamiento del daño cerebral maduro, que es un daño cerebral que no progresa más y en donde la muerte celular en el cerebro ha disminuido y el tratamiento neuroprotector ya no es efectivo, en donde dicho daño cerebral maduro ha sido causado por un accidente cerebrovascular, que ha resultado en un trastorno posterior al accidente cerebrovascular que es una disfunción sensorial y motora.

15 **Antecedentes**

El glutamato, que es un neurotransmisor en el sistema nervioso central de los mamíferos, interacciona con diferentes receptores de glutamato. Algunos de estos receptores son los receptores metabotrópicos de glutamato (mGluR), de los cuales existen ocho subtipos diferentes divididos en tres grupos. El grupo I incluye, entre otros, el subtipo 5, mGluR5.

Un modulador alostérico es una sustancia que modula indirectamente los efectos de otra sustancia (habitualmente, un ligando, que puede ser un agonista o antagonista, y en el presente caso glutamato) en una proteína diana, tal como un receptor y en este caso específico el subtipo 5 del receptor metabotrópico de glutamato. Los moduladores alostéricos se unen a un sitio en el receptor distinto del sitio o sitios de unión ortostéricos, que son los sitios de unión al ligando del receptor para agonistas o antagonistas. A menudo, el modulador alostérico induce un cambio conformacional dentro de la estructura de la proteína. Un modulador alostérico negativo (NAM) es un atenuador, y un modulador alostérico positivo (PAM) es un potenciador de los efectos de la otra sustancia que actúa en el o los sitios ortostéricos. Un NAM de mGluR5 modula la unión del glutamato al subtipo 5 del receptor de glutamato. Por tanto, un NAM de mGluR5 no es equivalente a un antagonista del subtipo 5 del receptor metabotrópico de glutamato.

En estudios experimentales, se ha mostrado anteriormente que al menos algunos NAM de mGluR5, tal como 2-metil-6-feniletinilpiridina (MPEP), tienen una acción neuroprotectora cuando se administran poco después de una lesión cerebral. Sin embargo, según estos estudios anteriores, el tratamiento debe iniciarse muy temprano después de que se haya producido la lesión, en un lapso de tiempo que va desde minutos hasta 4 horas después de la lesión. Además, los datos son contradictorios, algunos muestran protección cerebral mediante antagonistas de mGluR5 y NAM de mGluR5, mientras que otros demuestran el efecto opuesto o protección mediante agonistas de mGluR5. Por lo tanto, la ventana de tiempo terapéutica neuroprotectora de los NAM de mGluR5 es estrecha y presumiblemente refleja la inhibición de la excitotoxicidad aguda durante la agresión.

El documento US 2006/0030559 A1 divulga compuestos para su uso en el tratamiento de enfermedades mediadas por los receptores metabotrópicos de glutamato (mGluR), tales como ansiedad, dolor crónico y agudo, protección contra daño hepático, incontinencia urinaria, obesidad, X frágil y autismo, enfermedad de Alzheimer, epilepsia, esquizofrenia, isquemia, corea de Huntington, esclerosis lateral amiotrófica (ELA), demencia causada por el SIDA y enfermedad de Parkinson.

Zhang, Lei et al, Journal of Medicinal Chemistry, 2014, vol.57, p.861-877 divulga los compuestos SIN008, SIN011 y SIN014 como moduladores alostéricos negativos de mGluR5.

Jeaschke, Georg et al, Journal of Medicinal Chemistry, 2015, vol.58, p. 1358-1371 divulga los compuestos SIN010 y SIN014 como moduladores alostéricos negativos de mGluR5.

El documento WO 02/068417 A2 divulga antagonistas de mGluR5 para el tratamiento de accidente cerebrovascular, traumatismo craneoencefálico o lesión isquémica.

El documento WO 2009/076529 A1 divulga una serie de antagonistas de mGluR5 para su uso en el tratamiento del accidente cerebrovascular isquémico y otros trastornos relacionados con el SNC y el cerebro.

Szydłowska et al, European Journal of Pharmacology, Elsevier Science (2006), vol. 554, p. 18-29 divulga el efecto neuroprotector de los antagonistas de mGluR5 MPEP y MTEP en ratas.

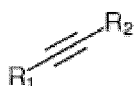
60 **Compendio de la invención**

La invención se define por las reivindicaciones. Cualquier materia que quede fuera del alcance de las reivindicaciones se proporciona solo con fines informativos

La presente invención se refiere a un modulador alostérico negativo (NAM) del receptor metabotrópico de glutamato 5 (mGluR5) para su uso en el tratamiento del daño cerebral maduro, que es un daño cerebral que no progresa más y en donde la muerte celular en el cerebro ha disminuido y el tratamiento neuroprotector ya no es efectivo, en donde dicho daño cerebral maduro ha sido causado por un accidente cerebrovascular, que ha resultado en un trastorno posterior al accidente cerebrovascular que es una disfunción sensorial y motora.

Descripción detallada de la invención

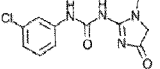
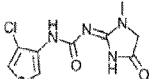
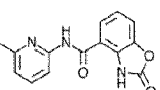
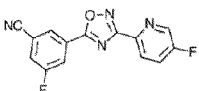
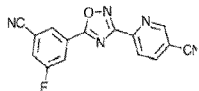
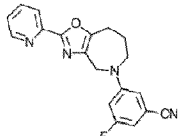
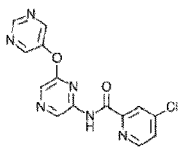
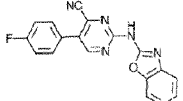
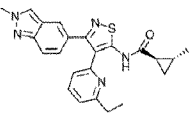
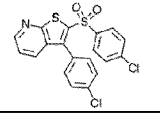
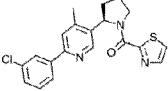
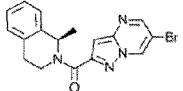
Como ya se mencionó, la presente invención se refiere al uso de Moduladores Alostéricos Negativos (NAM) del receptor metabotrópico de glutamato subtipo 5 (mGluR5) en el tratamiento de un daño cerebral maduro. El experto sabe que existen varios NAM diferentes de mGluR5. En la Tabla 1, a continuación, se enumeran ejemplos de moduladores alostéricos negativos (NAM) del receptor metabotrópico de glutamato subtipo 5 (mGluR5) que se han descrito anteriormente y que pueden usarse de acuerdo con la presente invención. En la Tabla 1, los diferentes NAM se han agrupado en dos quimiotipos; algunos compuestos pertenecen a la serie de los alquinos, es decir, compuestos con una estructura principal acetilénica, y otros a la serie no alquino, es decir, compuestos con una estructura principal no acetilénica. Todos los compuestos que pertenecen a la serie de los alquinos tienen la estructura generalizada:

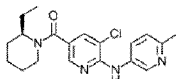
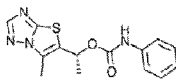
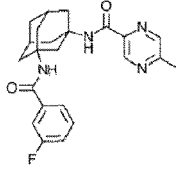


en donde el significado de R₁ y R₂, respectivamente, proviene de la Tabla 1.

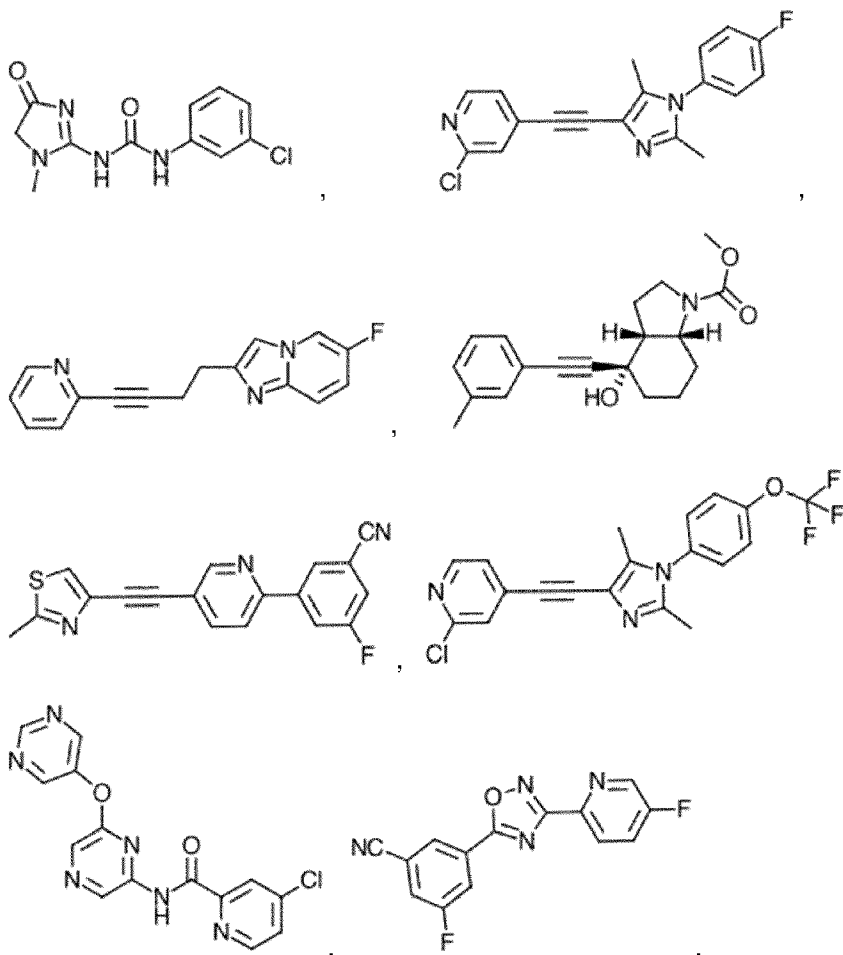
Tabla 1. Nombres y estructuras químicas de NAM de mGluR5 conocidos

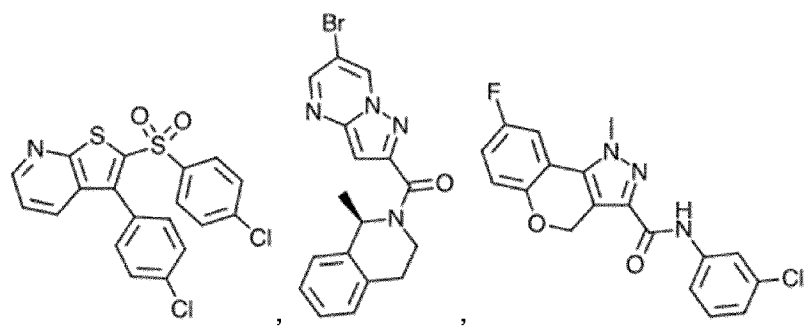
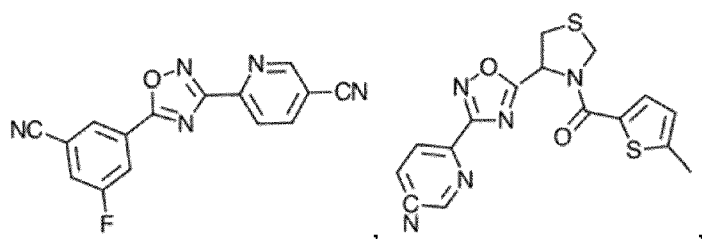
Serie alquino			
Nombre(s) comercial(es)	Nombre químico	Técnica anterior que divulga el compuesto	Estructura química
AFQ056 Mavoglurant SIN011	Éster metílico del ácido (3aR,4S,7aR)-octahidro-4-hidroxi-4-[2-(3-metilfenil)etnil]-1H-indol-1-carboxílico	Cole P. Drugs of the Future 37:7	
RG7090 Ro4917523 Basimglurant SIN014	2-cloro-4-((2,5,-dimetil-1-(4-fluorofenil))-1H-imidazol-4-il)etnil)piridina	US 2012-035222	
CTEP SIN013	2-cloro-4-((2,5,-dimetil-1-(4-fluorofenil))-1H-imidazol-4-il)etnil)piridina	Lindemann et al. 339:474 (2011)	
STX107 SIN017	3-fluoro-5-(5-((2-metiltiazol-4-il)etnil)piridin-2-il)benzonitrilo	Zhou H et al. Bioorg Med Chem Lett 23:1398 (2013)	
ADX-48621 Dipraglurant SIN008	6-fluoro-2-[4-(piridin-2-il)-3-butinilimidazo[1,2-a]piridina	Sciamanna G et al., Neuropharmacology 85:440 (2014)	
GRN-529	((4-difluorometoxi-3-(piridin-2-iletinil)fenil)5H-pirrol[3,4-b]piridin-6(7H)-ilmetanona)	US 2010-0273772	
MFZ 10-7	3-fluoro-5-[(6-metilpiridin-2-il)etnil]benzonitrilo	Keck TM et al, ACS Med Chem Lett 3:544 (2012)	
MRZ-8676	6,6-dimetil-2-feniletinil-7,8-dihidro-6H-quinolin-5-ona etinil]benzonitrilo	Dekundy et al., Neurotransmission Neurotransmission 118:1716 (2011) Biol. 19:195 (2012)	

Ligandos no alquinos			
<i>Nombre(s) comercial(es)</i>	<i>Nombre químico</i>	<i>Técnica anterior que divulga el compuesto</i>	<i>Estructura química</i>
Fenobam SIN010	N-(3-clorofenil)-N0-(4,5-dihidro-1-metil-4-oxo-1H-imidazol-2-il)urea	Porter RH, J Pharmacol Exp Ther 315:711 (2005)	
	1-(5-Cloro-3-tienil)-3-(1-metil-4-oxo-2-imidazolin-2-il)urea)	Jaeschke G et al Bioorg, Med Chem Lett 17:1307 (2007)	
	(6-metil-piridin-2-il)-amida del ácido 2-oxo-2,3-dihidrobencooxazol-4-carboxílico	Cecarelli et al. Bioorg Med Chem Lett 17, 1302 (2007)	
AZD-6538 SIN015	3-fluoro-5-(3-(5-fluoropiridin-2-il)-1,2,4-oxadiazol-5-il)benzonitrilo	Raboisson P et al., Bioorg, Med Chem Lett 22:6974 (2012)	
AZD-9272	6-[5-(3-ciano-5-fluorofenil)-1,2,4-oxadiazol-3-il]piridin-3-carbonitrilo	Raboisson P et al., Bioorg, Med Chem Lett 22:6974 (2012)	
	3-Fluoro-5-(2-(piridin-2-il)-7,8-dihidro-4H-oxazolo[4,5-c]azepin-5(6H)-il)benzonitrilo	Burdi et al., J Med Chem. 53, 7107 (2010)	
VU0431316	4-cloro-N-(6-(pirimidin-5-iloxi)pirazin-2-il)picolinamida	Bates BS et al., Bioorg Med Chem 24:3307 (2014)	
VU0366058	2-[(1,3-benzoxazol-2-il)amino]-4-(4-fluorofenil)pirimidin-5-carbonitrilo	Mueller R et al. Chem Med Chem 7:406 (2012)	
	(1R,2R)-N-(4-(6-isopropilpiridin-2-il)-3-(2-metil-2H-indazol-5-il)isotiazol-5-il)-2-metilciclopropanocarboxamida	Hou J et al., Bioorg Med Chem Lett 23:1249 (2013)	
		WO 2007/072095 Nogradi K et al., Bioorg Med Chem Lett 24:3845 (2014)	
		Weiss JM et al, Bioorg, Med Chem Lett 21:4891 (2011)	
	6-bromo-pirazolo[1,5-a]pirimidin-2-il)-(1-metil-3,4-dihidro-1H-isoquinolin-2-il)-metanona	WO 2011/064237	

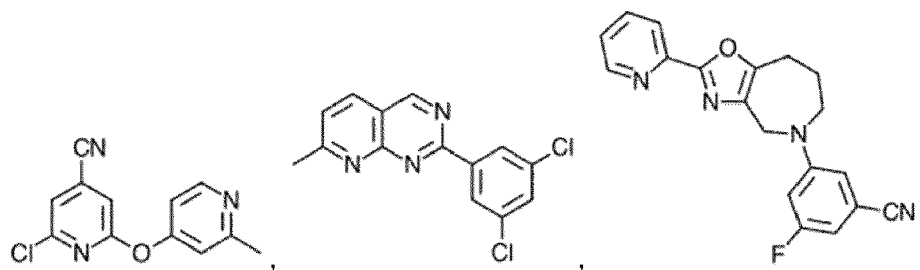
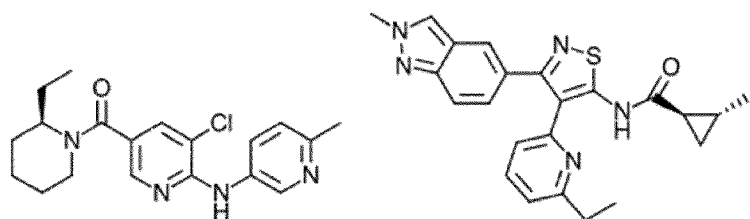
		Panka C et al., Bioorg Med Chem Lett 20:184 (2010)	
GSK221 0875	N-fenilcarbamato de [(1R)-1-(6-metil-[1,3]tiazolo[2,3-e] [1,2,4]triazol-5-il)etilo]	Pilla M et al., Bioorg Med Chem Lett 20:7521 (2010)	
	[3-(3-fluoro-benoilamino)adamantan-1-il]-amida del ácido 5-metil-pirazina-2-carboxílico así como 6 derivados del mismo	WO 2010/011570 A1	

- El experto también está familiarizado con los métodos de ensayo que pueden usarse para decidir si un compuesto específico es o no un NAM de mGluR5. Los ejemplos de tales métodos de ensayo (Vranesic et al, (2014) Bioorg. Med. Chem, 22:5790-5803) son desplazamiento de radioligando (Gasparini et al, (2002) Bioorg Med Chem Lett, 12:407 -409), inhibición de la movilización de Ca²⁺ celular (Widler et al, (2010) J. Med. Chem, 53:2250-2263), e inhibición de la hidrólisis de inositolfosfato (Litschig et al., (1999) Mol. Pharm, 55:453-461), ensayos
- 10 En algunas realizaciones de la presente invención, el NAM usado se selecciona del grupo que consiste en los siguientes compuestos:



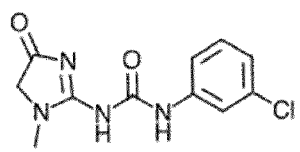


5



10

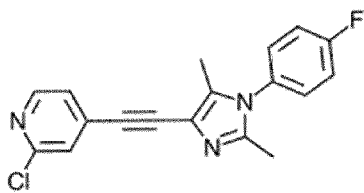
En algunas realizaciones, el NAM usado es:



15

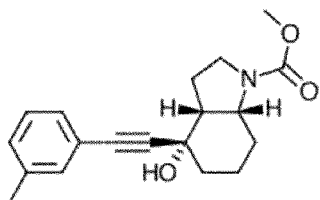
que se indica como SIN010 en los Ejemplos siguientes.

En algunas realizaciones, el NAM usado es:



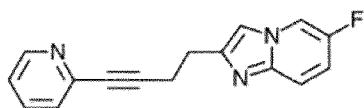
5 que se indica como SIN014 en los Ejemplos siguientes, y que es un análogo cercano al compuesto indicado como SIN013 en los Ejemplos siguientes.

En algunas realizaciones, el NAM usado es:



10 que se indica como SIN011 en los Ejemplos siguientes.

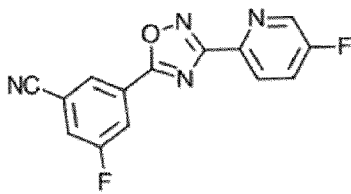
En algunas realizaciones, el NAM usado es:



15 que se indica como SIN008 en los Ejemplos siguientes.

En algunas realizaciones, el NAM usado es:

20



que se indica como SIN015 en los Ejemplos siguientes.

25 En algunas realizaciones, el NAM usado se selecciona del grupo que consiste en sales y solvatos farmacéuticamente aceptables de cualquiera de los 20 compuestos específicos mencionados anteriormente.

30 En este contexto, sal farmacéuticamente aceptable significa una sal de un NAM según la invención, que no causa irritación significativa a un paciente al que se administra y no anula la actividad biológica y las propiedades del compuesto.

35 Los solvatos de los compuestos descritos en la presente memoria se pueden usar con el fin de alterar las propiedades químicas y físicas, tales como punto de fusión, reactividad química, solubilidad aparente, velocidad de disolución, propiedades ópticas y eléctricas, presión de vapor y densidad. Si el disolvente incorporado es agua, los solvatos también se conocen comúnmente como hidratos.

En algunas realizaciones, es posible usar un compuesto que, al administrarse a un ser humano, se metaboliza a cualquiera de los NAM mencionados anteriormente. El NAM según la invención se utiliza entonces indirectamente.

40

Dado que estos compuestos se conocen previamente, el experto sabe cómo sintetizarlos.

Según la presente invención, el NAM de mGluR5 se utiliza en el tratamiento de un daño cerebral maduro.

En el contexto de la presente invención, el término "daño cerebral maduro" se refiere a cualquier daño cerebral o lesión cerebral establecido y que, por lo tanto, no progresa más. Esto ocurre una vez que la muerte celular en el cerebro ha disminuido. El daño cerebral, o lesión cerebral, está relacionado con la destrucción o degeneración de las células cerebrales, y puede estar causado por una serie de diferentes afecciones, enfermedades y/o lesiones, y en el contexto de la presente invención el término daño cerebral incluye daños cerebrales tanto iatrogénicos como no iatrogénicos.

En algunas realizaciones, el daño cerebral maduro puede haber sido causado por un accidente cerebrovascular. El accidente cerebrovascular puede seleccionarse del grupo que consiste en accidente cerebrovascular isquémico, accidente cerebrovascular hemorrágico y ataque isquémico transitorio. En el caso de un accidente cerebrovascular hemorrágico, que puede estar causado por hipertensión o por la rotura de un vaso sanguíneo debilitado, incluidos aneurismas y malformaciones arteriovenosas.

El daño cerebral maduro causado por un accidente cerebrovascular puede haber progresado a una o más afecciones o trastornos seleccionados del grupo que consiste en deterioro cognitivo, disfunción sensoriomotora, depresión o fatiga. El deterioro cognitivo puede abarcar déficits de atención, memoria y memoria de trabajo, juicio y evaluación, razonamiento y "cómputo", resolución de problemas y toma de decisiones, y comprensión y producción de lenguaje, y puede implicar una o más afecciones seleccionadas del grupo que consiste en afasia, disfunción de la memoria y negligencia hemiespacial.

En algunas realizaciones, el daño cerebral maduro ha sido causado por un paro cardiopulmonar, una lesión cerebral aguda, una lesión cerebral traumática (TBI), cirugía, radiación, demencia vascular, ataque epiléptico, vasoespasmos cerebrales, y/o hipoxia del cerebro como resultado de un paro cardiopulmonar o casi ahogamiento.

Cuando el NAM de mGluR5 según la invención se administra a un paciente que sufre un daño cerebral maduro, conducirá a una recuperación mejorada de la función cerebral del paciente, en comparación con cómo sería la situación sin la administración del NAM. El tratamiento según la presente invención debe iniciarse una vez que se haya producido un daño cerebral maduro. Una vez que el daño cerebral o la lesión cerebral no progresan más, la muerte celular en el cerebro ha disminuido y el tratamiento neuroprotector ya no es efectivo. Por tanto, el tratamiento según la presente invención se iniciará una vez que un tratamiento neuroprotector ya no tenga ningún efecto significativo sobre el daño. Por lo tanto, en algunas realizaciones, el tratamiento no se iniciará hasta que hayan pasado al menos 4 horas desde que se produjo el daño cerebral agudo. En algunas realizaciones, el tratamiento se inicia no antes de 5 horas después de que se haya producido el daño cerebral agudo. En algunas realizaciones, el tratamiento se inicia no antes de 6 horas después de que se haya producido el daño cerebral agudo. En algunas realizaciones, el tratamiento se inicia no antes de 8 horas después de que se haya producido el daño cerebral agudo. Cuando el daño cerebral agudo, tal como un accidente cerebrovascular agudo, se trata con un agente trombolítico, es decir, con terapia fibrinolítica, o mediante la eliminación mecánica de la oclusión que impide el flujo sanguíneo en las arterias cerebrales, el momento del inicio del tratamiento según la invención puede coincidir con la finalización de la terapia fibrinolítica o después de la eliminación mecánica de la oclusión. Cuando se utiliza la recanalización - ya sea farmacológica o quirúrgica - el tratamiento según la invención puede iniciarse cuando se realiza la recanalización o poco después.

Cuanto antes se inicie el tratamiento, mejor. Sin embargo, también es posible iniciar el tratamiento mucho después de que se haya establecido el daño cerebral agudo, es decir, mucho después del daño o lesión cerebral inicial que dio lugar al daño cerebral maduro. Es posible iniciar el tratamiento días, semanas, meses o incluso años después del establecimiento del daño cerebral maduro. Este inicio posterior del tratamiento según la invención es similar a cuando se podría considerar la fisioterapia regular incluso durante las últimas etapas de un daño cerebral maduro.

El tratamiento según la invención puede durar toda la vida. Alternativamente, el tratamiento puede continuarse durante 2-7 días, durante 2-4 semanas, durante 2-4 meses o durante uno o algunos años.

El tratamiento según la invención se puede combinar con una o más terapias diferentes. Por ejemplo, se puede combinar con estimulación magnética transcraneal (Pollock et al, (2014) Interventions for improving upper limb limb function after stroke (review), Chocrane Database Sys Rev, 12:11). Alternativamente, el tratamiento según la invención se puede combinar con estimulación cerebral eléctrica (Pollock et al, 2014), dicha estimulación eléctrica puede ser anódica o catódica. El tratamiento según la invención también puede combinarse con fisioterapia, entrenamiento de rehabilitación que incluye realidad virtual asistida por computadora o entrenamiento y terapias asistidas por robótica (Laffont et al. Annals of Physical and Rehabilitation Medicine (2014) 57:543-551). Dicha fisioterapia puede ser una terapia inducida por restricciones. Esto se analiza con más detalle en el Ejemplo 2.

El término "tratamiento" utilizado en la presente memoria se refiere al tratamiento con el fin de curar o aliviar una enfermedad o una afección.

El término "paciente", como se usa en la presente memoria, se refiere a cualquier mamífero humano o no humano que necesite tratamiento según la invención.

- 5 El término "cantidad terapéuticamente efectiva" se refiere a una cantidad que conducirá al efecto terapéutico deseado, es decir, a un efecto beneficioso sobre el daño cerebral maduro que se va a tratar.

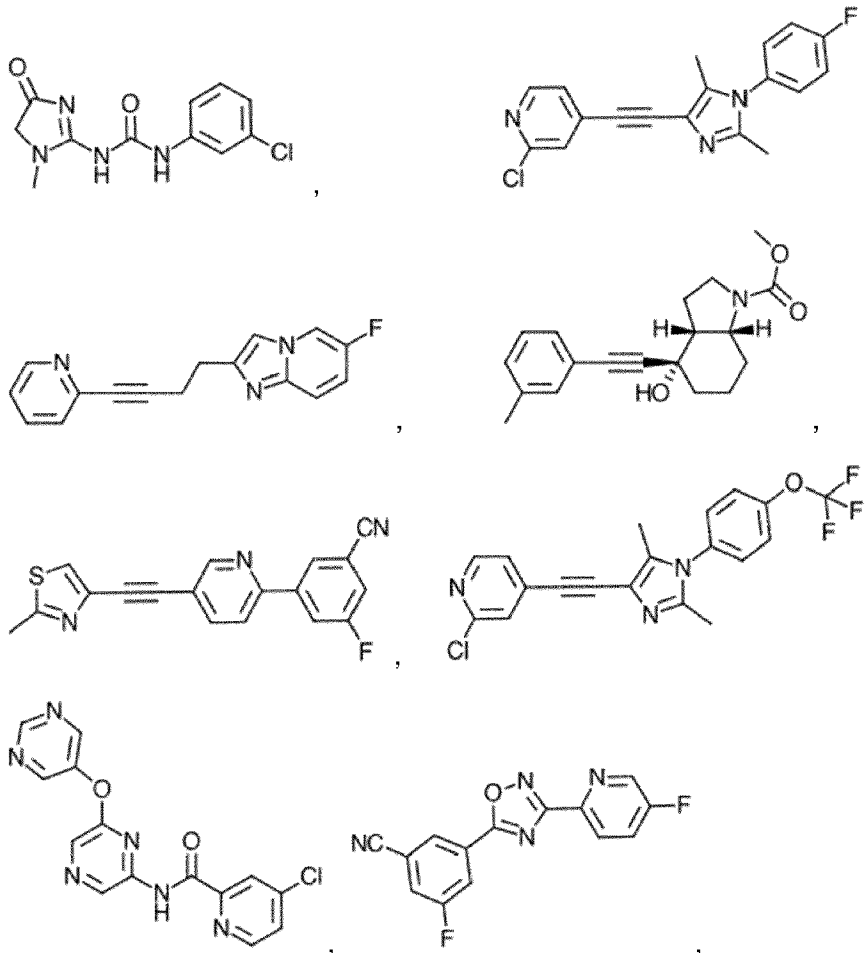
10 El NAM según la invención o utilizado según la invención puede incluirse en una composición o formulación farmacéutica. Dicha composición puede incluir excipientes y/o adyuvantes farmacéuticos, incluidos diluyentes y vehículos. La composición farmacéutica facilita la administración del NAM según la invención a un paciente. La composición farmacéutica puede fabricarse de una manera conocida en sí misma, p. ej., mediante procesos convencionales de mezclado, disolución, granulación, formación de grageas, levigación, emulsificación, encapsulado, atrapamiento o formación de comprimidos.

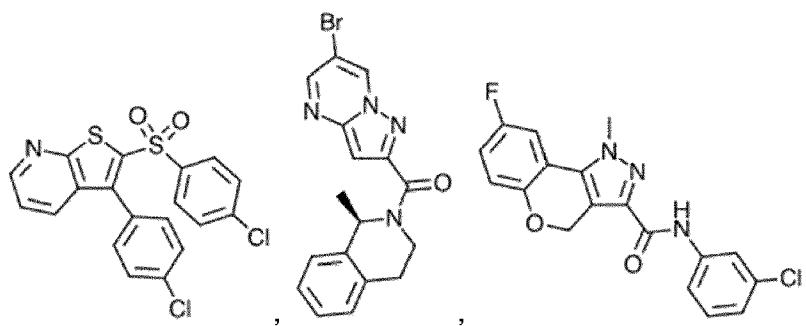
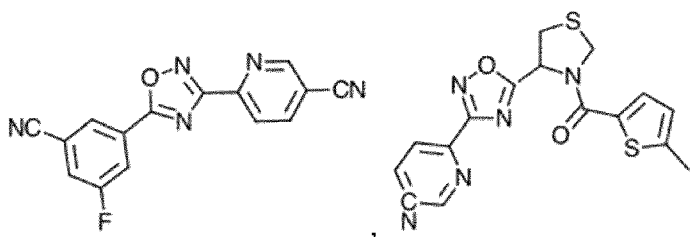
15 La administración del NAM o de la composición farmacéutica según la invención puede realizarse de cualquier manera convencional. Las vías de administración adecuadas pueden incluir, por ejemplo, la administración oral, rectal, transmucosal, tópica o intestinal; administración parenteral, incluidas las inyecciones intramusculares, subcutáneas, intravenosas, intramedulares, así como las inyecciones intratecales, intraventriculares directas, intraperitoneales, intranasales o intraoculares. Los compuestos se pueden administrar en formas de dosificación de liberación sostenida o controlada, para una administración prolongada.

25 En un aspecto de la invención, se proporciona un modulador alostérico negativo (NAM) del receptor metabotrópico de glutamato 5 (mGluR5) para su uso en el tratamiento de un daño cerebral maduro.

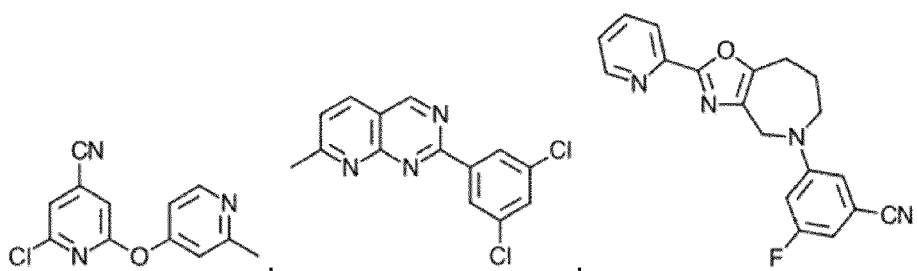
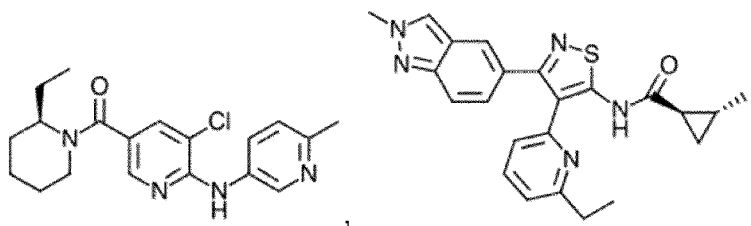
25 En una realización de este aspecto, el tratamiento da lugar a una mejora de la recuperación de la función cerebral de un paciente que sufre un daño cerebral maduro.

30 En una realización de este aspecto, dicho NAM se selecciona del grupo que consiste en:





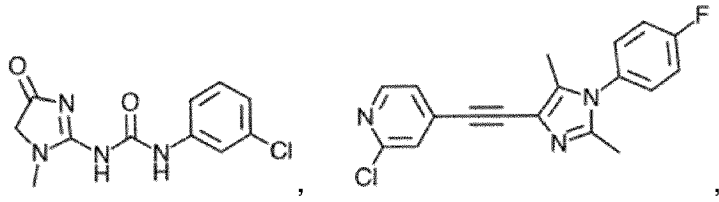
5



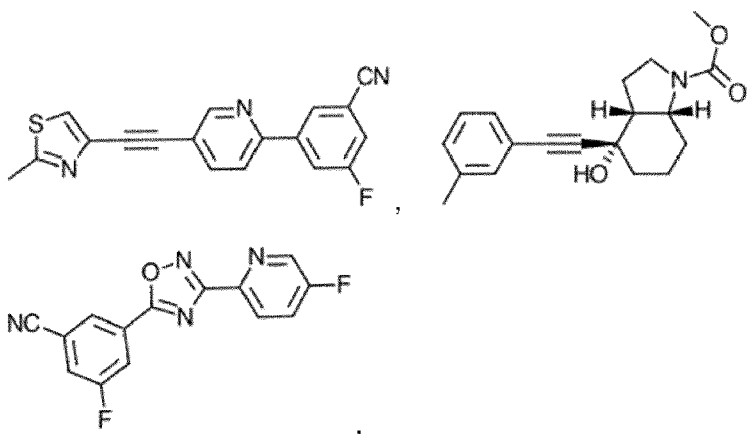
10

y sales y solvatos farmacéuticamente aceptables del mismo.

En una realización de este aspecto, dicho NAM se selecciona del grupo que consiste en:

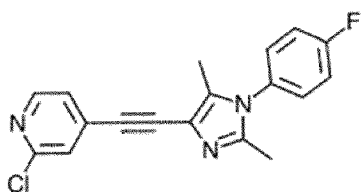


15



5 y sales y solvatos farmacéuticamente aceptables del mismo.

En una realización de este aspecto, dicho NAM es



10 y sales y solvatos farmacéuticamente aceptables del mismo.

15 En una realización de este aspecto, dicho daño cerebral maduro ha sido causado por una afección seleccionada del grupo que consiste en accidente cerebrovascular, traumatismo cerebral, paro cardiopulmonar y lesión cerebral aguda.

20 En una realización de este aspecto, dicho daño cerebral ha sido causado por un accidente cerebrovascular que ha resultado en un trastorno posterior al accidente cerebrovascular seleccionado del grupo que consiste en deterioro cognitivo, depresión, fatiga y disfunción sensorial y motora.

25 En una realización de este aspecto, dicho tratamiento debe iniciarse una vez que un tratamiento neuroprotector ya no sea efectivo.

30 En una realización de este aspecto, dicho tratamiento debe iniciarse después de que se haya finalizado el tratamiento neuroprotector.

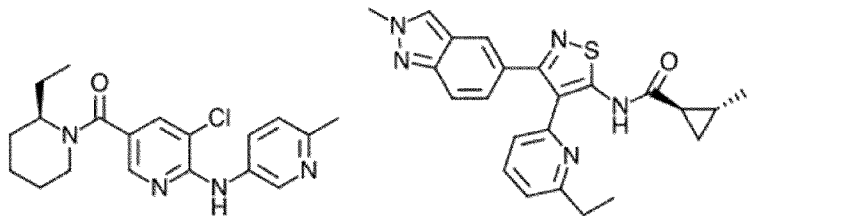
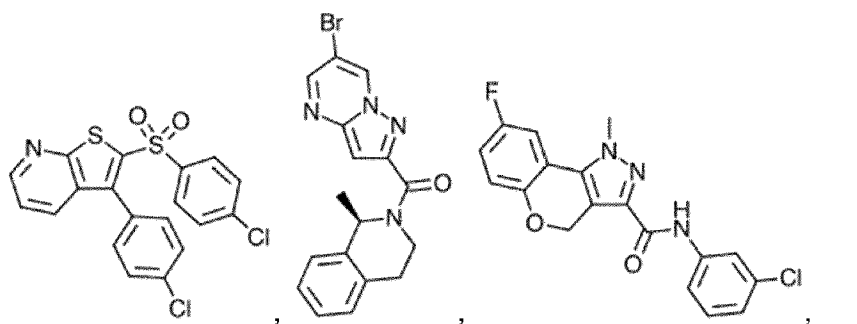
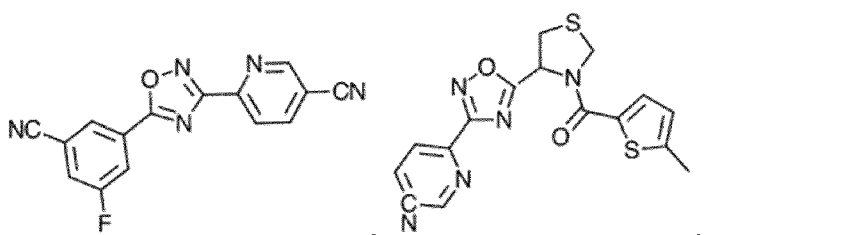
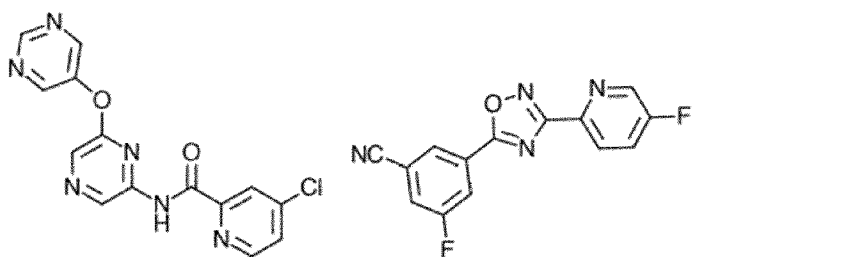
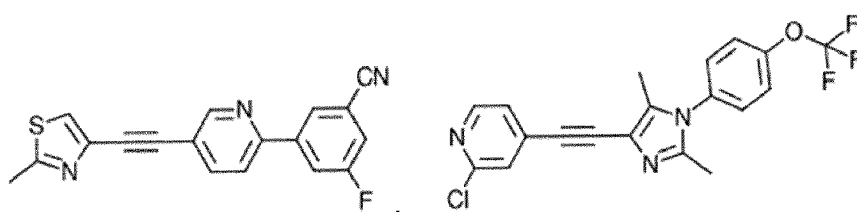
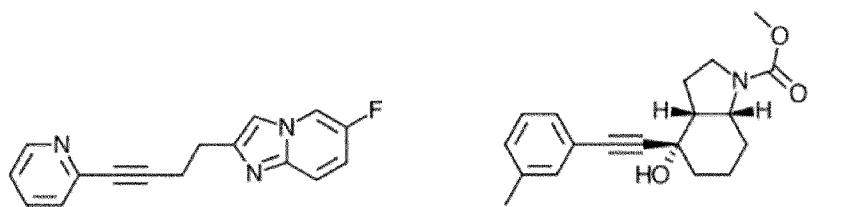
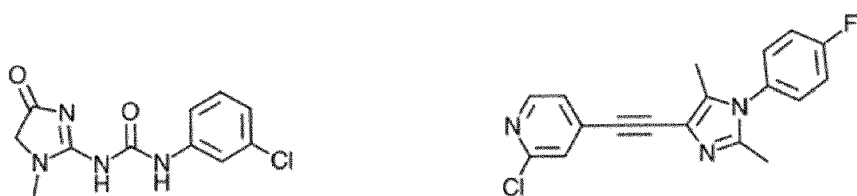
En una realización de este aspecto, dicho tratamiento debe iniciarse no antes de 4 horas después de que se haya producido el daño cerebral agudo inicial.

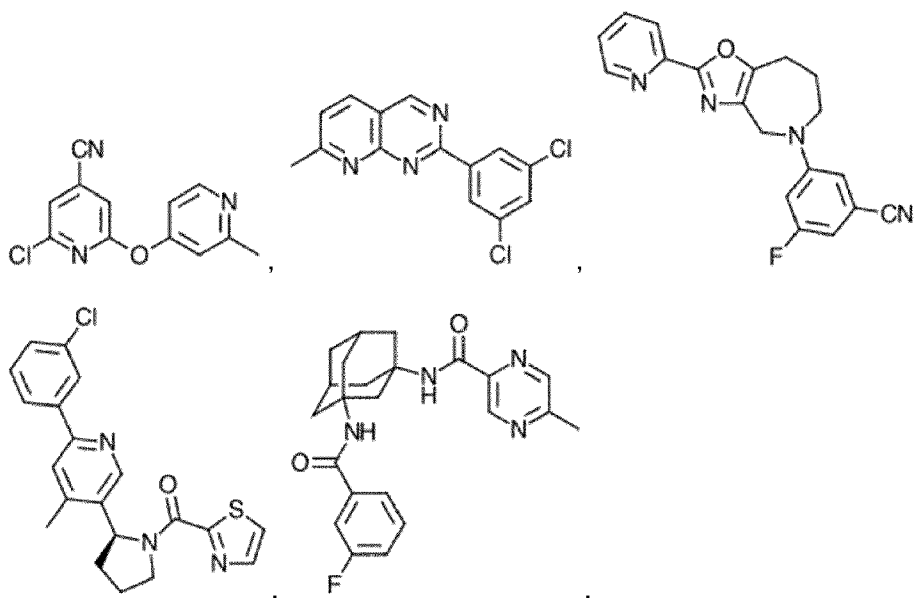
35 En una realización de este aspecto, el tratamiento se combina con estimulación magnética transcraneal, estimulación eléctrica y/o terapias físicas y conductuales.

En un aspecto de la invención se proporciona un método para tratar o aliviar el daño cerebral maduro, que comprende administrar una cantidad terapéuticamente efectiva de un modulador alostérico negativo (NAM) del receptor metabotrópico de glutamato 5 (mGluR5) a un paciente que lo necesite.

En una realización de este aspecto, el tratamiento da lugar a una mejora de la recuperación de la función cerebral de un paciente que sufre un daño cerebral maduro.

40 En una realización de este aspecto, dicho NAM se selecciona del grupo que consiste en:

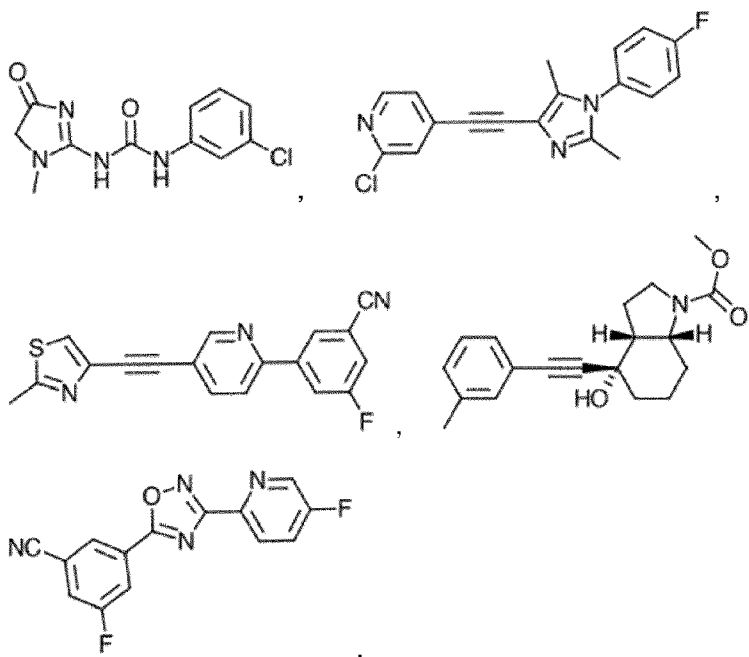




5

y sales y solvatos farmacéuticamente aceptables del mismo.

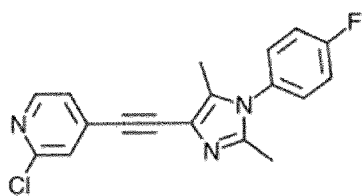
En una realización de este aspecto, dicho NAM se selecciona del grupo que consiste en:



10

y sales y solvatos farmacéuticamente aceptables del mismo.

En una realización de este aspecto, dicho NAM es



20

y sales y solvatos farmacéuticamente aceptables del mismo.

En una realización de este aspecto, dicho daño cerebral maduro ha sido causado por una afección seleccionada del grupo que consiste en accidente cerebrovascular, traumatismo cerebral, paro cardiopulmonar y lesión cerebral aguda.

5 En una realización de este aspecto, dicho daño cerebral ha sido causado por un accidente cerebrovascular que ha resultado en un trastorno posterior al accidente cerebrovascular seleccionado del grupo que consiste en deterioro cognitivo, depresión, fatiga y disfunción sensorial y motora.

10 En una realización de este aspecto, dicho tratamiento debe iniciarse una vez que un tratamiento neuroprotector ya no sea efectivo.

En una realización de este aspecto, dicho tratamiento debe iniciarse después de que se haya finalizado el tratamiento neuroprotector.

15 En una realización de este aspecto, dicho tratamiento debe iniciarse no antes de 4 horas después de que se haya producido el daño cerebral agudo inicial.

En una realización de este aspecto, el tratamiento se combina con estimulación magnética transcraneal, estimulación eléctrica y/o terapias físicas y conductuales.

20

Breve descripción de los dibujos

En los ejemplos siguientes, se hace referencia a las figuras adjuntas, en las que:

25 las Fig. 1A-D ilustran el efecto del modulador alostérico negativo de mGluR5 prototípico con una estructura principal acetilénica: SIN007; 3((2-metil-1,3-tiazol-4-il)etil)piridina; MTEP sobre la recuperación funcional después de un accidente cerebrovascular en ratas, en comparación con el tratamiento con vehículo (Vh). Fig. 1A: Recuperación funcional tras 12 días de tratamiento iniciado 2 días después del accidente cerebrovascular. Fig. 1B: Tamaño del infarto tras el accidente cerebrovascular. Fig 1C: Evolución temporal de la recuperación funcional. SIN007 (S); vehículo (V). Fig. 1D: Se suspende la persistencia de la recuperación después de 5 días de tratamiento con SIN007.

35 las Fig. 2A-F ilustran el efecto del tratamiento con el modulador alostérico negativo de mGluR5 prototípico SIN007 sobre la recuperación funcional después de un accidente cerebrovascular en el ratón, en comparación con el tratamiento con vehículo (Vh). Fig 2A: Recuperación funcional tras 5 días de tratamiento. Fig. 2b: Tamaño del infarto tras el accidente cerebrovascular. Fig. 2C: Tratamiento de cinco días que comienza 2 días (2 d) o 10 días (10 d) después del accidente cerebrovascular. Fig 2D: Pretratamiento con el modulador alostérico positivo de mGluR5 SIN 006; (hidrocloruro de N-ciclobutil-6-[2-(3-fluorofenil)etil]-3-piridinacarboxamida); VU0360172, una hora antes del tratamiento con SIN 007 durante 6 días. Fig. 2E y 2F: Al alojar ratones en un ambiente enriquecido durante 5 días después del accidente cerebrovascular, se mejora la recuperación de la función cerebral, un efecto que se elimina con un tratamiento concomitante con SIN006 (Fig. 2E), pero se mejora aún más con el tratamiento concomitante con SIN007 (Fig. 2F), respectivamente.

45 la Fig. 3A-D ilustran el efecto de los NAM acetilénicos de mGluR5 disponibles por vía oral de los compuestos sobre la recuperación funcional después de un accidente cerebrovascular. Fig. 3A: Efecto de SIN 008 [6-Fluoro-2-[4-(piridin-2-il)-3-butinil]imidazo[1,2-a]piridina, ADX 70084] sobre la recuperación funcional en la rata. Fig. 3B: Efectos de SIN011 ([3aS,5S,7aR]-5-hidroxi-5-(m-toliletinil)octahidro-1H-indol-1-carboxilato de metilo, mavoglurant) y, Fig. 3C:, el efecto de dos dosis de SIN013 ([2-cloro-4-((2,5-dimetil-1-(4-(trifluorometoxi)fenil))-1H-imidazol-4-il)etil)piridina, CTEP) sobre la recuperación funcional en el ratón. Fig. 3D: El efecto de SIN013 sobre la recuperación funcional de ratas de tipo salvaje e inactivación génica (KO) de mGluR5. Fig. 3E: El efecto de SIN014 [2,5,-dimetil-1-[4-fluorofenil]imidazol-4-il]etil)piridina, (RG7090, Basimglurant)) de la recuperación funcional después de un accidente cerebrovascular en el ratón. Fig. 3F: Efecto de SIN017 (3-fluoro-5-(5-((2-metiltiazol-4-il)etil)piridin-2-il)benzotrilo, STX107) sobre la recuperación funcional en el ratón.

55 la Fig. 4A: El efecto de SIN 010 [1-(3-clorofenil)-3-(3-metil-5-oxo-4H-imidazol-2-il)urea, fenobam) sobre la recuperación funcional en la rata a 1 semana y 2 semanas después del accidente cerebrovascular.

la Fig. 4B: El efecto aditivo del tratamiento con SIN010 sobre el efecto de mejora de la recuperación del alojamiento enriquecido en ratas.

60

la Fig. 4C: El efecto de SIN 015 [3-fluoro-5-(3-(5-fluoropiridin-2-il)-1,2,4-oxadiazol-5-il)benzotrilo] sobre la recuperación funcional después de un accidente cerebrovascular en la rata.

65

Ejemplos

Los siguientes ejemplos se dan con el fin de ilustrar la invención y, en particular, realizaciones específicas de la misma.

5 Ejemplo 1: Efectos de un alquino prototípico NAM de mGluR5, SIN007, sobre la recuperación funcional después de un accidente cerebrovascular en la rata.

Procedimientos experimentales

10 Animales. Todos los experimentos se llevaron a cabo con la aprobación de la junta de revisión de animales de Malmö-Lund y de acuerdo con las pautas de ARRIVE. Los animales se alojaron en condiciones de luz inversa y las pruebas se realizaron durante el período de oscuridad cuando las ratas están activas. Los experimentos se llevaron a cabo en ratas macho Sprague Dawley (11 semanas de edad, Charles River, Scanbur A/S Karlslunde, Dinamarca). Los estudios fueron sometidos a aleatorización y se realizaron de forma ciega para los investigadores que realizaron las cirugías y la evaluación conductual.

15 Materiales. (3-[(2metil-1,3-tiazol-4-il)etnil]piridina, MTEP) fue sintetizada por Beijing Honghui Meditech Co., Ltd, (Pekín, China) y la estructura se confirmó mediante H^1 -RMN. Se disolvió en Tween 80 al 0,3 % en solución salina.

20 Administración del compuesto. El compuesto se inyectó como una dosis en bolo de 1 ml/kg en el cuadrante inferior del abdomen.

25 Accidente cerebrovascular experimental. Los animales fueron anestesiados con isoflurano (aproximadamente al 2 % en O_2 bajo ventilación espontánea) y colocados en un marco estereotáxico. La temperatura se controló durante la cirugía usando una sonda de temperatura rectal y los animales se mantuvieron a $37,0-37,5 \pm 0,2$ °C por medio de una almohadilla térmica con control de retroalimentación. Se realizó una incisión cutánea sagital y se eliminó el tejido conectivo subcutáneo y se secó el cráneo. Posteriormente, se infundió el colorante fotosensibilizador rosa de Bengala (0,5 mL a 10 mg/mL) en la vena de la cola. Dos minutos después de la inyección, el cráneo se iluminó con luz fría (Schott, KL 1500 LCD) en un área de 8 a 4,5 mm durante 15 min (de +4 a -4 mm anteroposterior y de 0,5 a 5 mm en el lado izquierdo del bregma). A continuación, se suturaron las incisiones en la cola y el cuero cabelludo y las ratas se transfirieron a su jaula. El déficit funcional se evaluó 2h después del inicio del accidente cerebrovascular usando la prueba de colocación de las extremidades y solo se utilizaron para el estudio los animales que tenían una puntuación de 0, tanto para las extremidades anteriores como para las posteriores contralaterales al hemisferio cerebral dañado.

35 Prueba de función neurológica. La prueba de colocación de las patas. El daño cortical infligido por la fototrombosis provoca un déficit debido a la pérdida neuronal en el área sensoriomotora y depresión de funciones en las redes neuronales cercanas a la lesión. Esto se manifiesta por una pérdida de respuesta en la prueba de colocación de las patas. Esta prueba proporciona información sobre la respuesta táctil/propioceptiva a la estimulación de las extremidades. Los animales se colocaron con las 4 patas sobre la mesa y las patas a probar a lo largo del borde. La rata se movió sobre el borde para que las patas a probar perdieran el contacto con la superficie de la mesa. Se evaluó la capacidad de los animales para colocar la extremidad nuevamente sobre la superficie de la mesa cuando la rata se movía hacia el borde. Es importante destacar que la cabeza se mantuvo en un ángulo de 45°, de modo que se evitó la estimulación visual y del bigote/hocico. La colocación rápida de la extremidad sobre la mesa se puntuó como 1. La colocación incompleta de la extremidad se puntuó como 0,5 y la extensión completa de la extremidad y la pata se puntuó como 0. Con el fin de obtener grupos con un déficit funcional similar antes del tratamiento de los animales con fármacos o vehículo, la clasificación selectiva se realizó el día 2 después del accidente cerebrovascular experimental, un punto de tiempo de recuperación en el que el desarrollo del infarto había disminuido. Por lo tanto, sólo los animales que mostraron un déficit severo en la colocación de la pata (puntuación = 0) ingresaron en los estudios.

55 Recogida de tejidos. Los animales fueron anestesiados profundamente (isoflurano) y fijados por perfusión con una solución de paraformaldehído (PFA) al 4 %. Los cerebros se recogieron y se sumergieron en una solución de PFA al 4 % durante 4 h, luego se transfirieron a una solución tampón de fosfato de sacarosa al 25 % (NaH_2PO_4 0,1 M, Na_2HPO_4 0,1 M) y se almacenaron a 4 °C. Luego, se cortaron los cerebros en rodajas de 30 μ m utilizando un microtomo y se guardó una rebanada cada 1 mm para medir el tamaño del infarto. Las demás se conservaron para inmunohistoquímica e inmunofluorescencia. Todas las rodajas se almacenaron en una solución anticongelante (etilenglicol al 30 %, glicerol al 30 %, NaH_2PO_4 0,01 M, Na_2HPO_4 0,03 M) a -20 °C.

60 Inmunohistoquímica. Se lavaron rodajas de cerebro que flotaban libremente tres veces en PBS (solución salina tampón fosfato) y se inactivaron en H_2O_2 al 3 % y MetOH al 10 % durante 15 minutos. Después de lavar en PBS, las secciones se bloquearon con una solución de bloqueo (suero de burro normal al 5 %, Jackson ImmunoResearch, Reino Unido y Triton X-100 al 0,25 % en PBS) durante una hora a temperatura ambiente. Las secciones se incubaron durante la noche a 4 °C con un anticuerpo monoclonal de ratón anti-NeuN (A60/MAB377, Millipore) a una dilución de 1:1.500. Después de tres enjuagues con suero de burro normal al 1 % y Triton X-100 al 0,25 % en PBS, las secciones se incubaron con anticuerpos biotinilados secundarios

apropiados (burro anti-conejo/ratón, Vector Laboratories, EE. UU.) a una dilución de 1:400 en solución de bloqueo durante 90 minutos a temperatura ambiente (RT). La visualización se logró mediante el kit Vectorstain ABC (Vector) utilizando tetrahidrocloruro de 3,3-diaminobencidina (DabSafe, Saveen Werner, Suecia), NiCl al 8 % y H₂O₂ al 3 %.

5 Mediciones de infarto. Las imágenes de campo brillante se adquirieron utilizando un microscopio Olympus BX60 (Solna, Suecia). Se escanearon doce rodajas con una separación de 1 mm y se delinearón y midieron el área no lesionada del hemisferio infartado y el hemisferio contralateral no lesionado utilizando el software de imágenes (Instituto Nacional de Salud, EE. UU.). El volumen del infarto (mm³) se determinó restando el área del hemisferio ipsilateral no lesionado de la del hemisferio contralateral intacto y se calculó mediante integración volumétrica para cada animal.

Resultados

15 El efecto del tratamiento diario durante 5 días con SIN007 (5 mg/kg i.p.) o vehículo (Tween 80 al 0,3 % en solución salina) comenzando 2 días después del accidente cerebrovascular en la puntuación de colocación de la pata evaluada 14 días después del accidente cerebrovascular se muestra en la figura 1A. Hubo una recuperación casi completa de la función de colocación de la pata en el grupo tratado con SIN007 (n=7) en comparación con el vehículo (n=5) (p<0,001, prueba de Mann Whitney). La Figura 1B muestra el tamaño medio del infarto de los animales incluidos en la figura 1A. El tamaño del infarto fue de 18,8 ±2,5 mm³ en los animales tratados con vehículo y de 19,5 ±4,6 mm³ en los animales con SIN007. No hubo diferencias en el tamaño del infarto entre los grupos con vehículo y tratados. La Figura 1C muestra el curso temporal de la recuperación de la función. Se requieren al menos 4 días de tratamiento con SIN007 para obtener un efecto del tratamiento y 14 días para obtener el máximo efecto del tratamiento (SIN007, s2-s7, n=11; Vh, v2-7, n=11; SIN007, s14, n=7; Vh, v14, n=5). La Figura 1D muestra el efecto de 5 días de tratamiento con SIN007 (n=4) y seguidos de un período de recuperación sin tratamiento con SIN007 (SIN007/sin). La recuperación de la función proporcionada por el tratamiento de 5 días con SIN007 persiste durante al menos 7 días después de la finalización del tratamiento. Tomados en conjunto, los datos demostraron que el tratamiento diario con el NAM de mGluR5 comenzando 2 días después del accidente cerebrovascular durante al menos 4 días y preferiblemente 14 días proporciona una recuperación persistente de la función cerebral sin proporcionar protección cerebral. Por lo tanto, SIN007 proporciona la recuperación de la función de las redes neuronales cerebrales que están deprimidas, pero no dañadas por el accidente cerebrovascular.

35 **Ejemplo 2. Efecto de un alquino prototípico NAM de mGluR5, SIN007, sobre la recuperación funcional después de un accidente cerebrovascular en el ratón.**

Procedimiento experimental

40 Animales. Todos los experimentos se llevaron a cabo con la aprobación de la junta de revisión de animales de Malmö-Lund y de acuerdo con las pautas de ARRIVE. Los experimentos se llevaron a cabo en ratones macho C57/BL6 (8 semanas de edad, Charles River Scanbur A/S Karlslunde, Dinamarca). Los estudios fueron sometidos a aleatorización y se llevaron a cabo de forma ciega para los investigadores que realizaron las cirugías y la evaluación conductual.

45 Los materiales fueron como en el Ejemplo 1 y la administración del fármaco se realizó como en el Ejemplo 1. Además, el modulador alostérico positivo (PAM) para el receptor mGluR5 fue SIN006 (Hidrocloruro de N-ciclobutil-6-[2-(3-fluorofenil)etilil]-3-piridinacarboxamida; VU0360172).

50 Inducción de accidente cerebrovascular en el ratón. Los ratones fueron sometidos a un infarto cortical fototrombótico (PT) unilateral en la corteza sensoriomotora izquierda. Durante la cirugía, la temperatura corporal de los animales se mantuvo a 37 °C usando una almohadilla térmica autorregulable. Los animales se anestesiaron usando isoflurano al 1,5-2,5 % (Sigma) en O₂ al 100 %. Se hizo una incisión en la piel sobre el cráneo; se conectó un haz de fibra óptica con un diámetro de apertura de 2,5 mm a una fuente de luz fría (CL 1500 ECO, Zeiss, Alemania) y se ajustó a las coordenadas estereotáxicas de la corteza sensoriomotora, 0,5 mm anterior al bregma y 1,5 mm lateral a la línea media. Se administró una inyección intraperitoneal (i.p.) de 0,25 ml de rosa de Bengala (10 mg/ml en solución salina al 0,9 %; Sigma-Aldrich, Alemania) 5 min antes de que se encendiera la luz durante 20 minutos. Se tuvo cuidado de no exceder los 38 °C en la superficie del cráneo, debajo del haz de fibra óptica. Después de la cirugía, a los animales se les permitió despertarse de la anestesia mientras estaban sobre una almohadilla térmica y regresaron a las jaulas con libre acceso a bolitas de comida y agua.

65 Alojamiento enriquecido. Es bien sabido que alojar roedores en un ambiente enriquecido estimula los diversos sistemas sensoriomotores del cerebro, mejorando la recuperación después de un accidente cerebrovascular experimental. El alojamiento enriquecido se logró mediante el siguiente procedimiento. Después de la clasificación selectiva el día 2 después del accidente cerebrovascular, los ratones se distribuyeron aleatoriamente en jaulas estándar (STD, 17 cm x 16 cm x 34,5 cm) o enriquecidas (EE, 30 cm x 27 cm x 43

cm). Las jaulas enriquecidas de varios niveles estaban equipadas con objetos de varios colores, tales como túneles de plástico, casitas, toboganes y ruedas para roedores; la disposición de los objetos se cambiaba cada dos días. Los ratones se alojaron en jaulas estándar (2 animales/jaula) o enriquecidas (6-8 animales/jaula) durante 12 días. Los animales en jaulas estándar fueron manipulados de manera similar excepto por las condiciones de alojamiento.

Prueba de colocación de las patas. Se sostuvo al ratón a lo largo de su extensión rostro-caudal en el borde de un banco y se empujaron suavemente las patas delanteras y traseras unilaterales. La colocación de cada pata se registró cuando el ratón se movía hacia el borde. La disfunción sensoriomotora se evaluó utilizando una puntuación de 1, 0,5 y 0: (1) - la pata se coloca inmediatamente sobre la superficie de la mesa; (0,5) - la extremidad se extiende, pero con algunos movimientos e intentos de colocar la pata en la superficie de la mesa; (0) - la pata está totalmente inmovilizada, colgando hacia abajo, sin movimiento. Con el fin de obtener grupos con un déficit funcional similar antes del tratamiento de los animales con fármacos o vehículo, se realizó una clasificación selectiva el día 2 después del accidente cerebrovascular experimental, un punto de tiempo de recuperación en el que el desarrollo del infarto había disminuido. Por lo tanto, sólo los animales que mostraron un déficit severo en la colocación de la pata (puntuación = 0) ingresaron en los estudios.

Los animales se perfundieron y se inmunotificaron como en el Ejemplo 1, y el tamaño del infarto se evaluó como en el Ejemplo 1.

Resultados

El efecto del tratamiento diario de ratones con SIN 007 (5 mg/kg i.p.) durante 5 días comenzando 2 días después del accidente cerebrovascular se muestra en la figura 2A. Se observa un fuerte efecto potenciador de la recuperación en los animales tratados con SIN007 (n=6) en comparación con los animales tratados con vehículo (n=9) ($p < 0,01$, Mann-Whitney). La recuperación no está asociada con la protección cerebral ya que el tamaño medio del infarto fue el mismo en los dos grupos. El infarto fue de $7,9 \pm 1,5 \text{ mm}^3$ en el grupo de vehículo y de $8,9 \pm 0,9 \text{ mm}^3$ en el grupo tratado con SIN007, Figura 2B. Si el tratamiento se retrasa y se inicia 10 días después del accidente cerebrovascular (n=5), la recuperación de la función es la misma que cuando el tratamiento se inicia 2 días después del accidente cerebrovascular (n=4), figura 2C, (Vh, n=8) (** indican $p < 0,01$, Prueba de Kruskal Wallis). Para demostrar que el efecto potenciador de la recuperación de SIN007 está mediado por la inhibición del receptor mGluR5, los ratones fueron tratados diariamente con un modulador alostérico positivo de mGluR5, SIN006 (30 mg/kg p.o.), comenzando dos días después del accidente cerebrovascular y 1 hora antes del tratamiento con SIN 007 (5 mg/kg i.p.) (*indica $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, prueba de Kruskal-Wallis), figura 2D. La puntuación de la colocación de las patas se evaluó después de 5 días de tratamiento. Los animales tratados con SIN007 (n=5) recuperaron la función de las patas en comparación con los animales tratados con vehículo (n=6) como también se muestra en las figuras 2A. Sin embargo, los animales tratados con SIN006 (n=5) antes de SIN007 no recuperaron la función. La importancia de la inhibición del receptor mGluR 5 para la recuperación de la función cerebral después de un accidente cerebrovascular también se muestra en un paradigma experimental en el que la función cerebral se mejora por medios físicos, colocando a los animales en un ambiente enriquecido. La recuperación mejorada de la función evidente en animales alojados durante 5 días en un ambiente enriquecido después del accidente cerebrovascular (n=7) en comparación con aquellos en alojamiento estándar (n=3), figura 2E, se bloquea completamente mediante el tratamiento concomitante con el agonista de mGluR5, SIN006 (30 mg/kg p.o., (n=4)). Esto demuestra nuevamente la implicación de los receptores mGluR5 en la recuperación de la función cerebral después de un accidente cerebrovascular (n=4) (*indica $p < 0,05$, prueba de Kruskal-Wallis). Además, el tratamiento con SIN007 (1 mg/kg, i.p. diariamente durante 3 días, n=5) mejora moderadamente la recuperación de la función, casi en el mismo grado que se observa en ratones alojados en un ambiente enriquecido (EE) (n=7). La combinación del tratamiento de SIN007 (1 mg/kg, i.p. durante 3 días, n=5) con alojamiento en un ambiente enriquecido, mejora significativamente la recuperación, lo que indica un efecto aditivo de NAM de mGluR5 con el entrenamiento sensorimotor.

Ejemplo 3. Efecto de los alquinos NAM de mGluR5 disponibles por vía oral, SIN008, SIN011, SIN013, SIN014 y SIN017, sobre la recuperación funcional después de un accidente cerebrovascular.

Procedimientos experimentales

Animales. Las ratas eran como en el Ejemplo 1 y los ratones como en el Ejemplo 2. Las ratas KO para mGluR5 con el gen mGluR5 inactivado eran de SAGE, Research Labs, Boyertown, PA, EE. UU.

Materiales. SIN008 (6-Fluoro-2-[4-(piridin-2-il)-3-butinil]imidazo[1,2-a]piridina, (ADX49621, dipraglurant), SIN013 [2-cloro-4-[2- [2,5,-dimetil-1-[4-(trifluorometoxi)fenil]imidazol-4-il]etilil]piridina, (CTEP)), SIN014 [2,5,-dimetil-1-[4-fluoro-fenil]imidazol-4-il]etilil]piridina, (RG7090, Basmiglurant)), SIN017 (3-fluoro-5-(5-((2-metilfenzil)etilil)piridin-2-il)benzotriazol-4-il) fueron todos sintetizados por Beijing Honghui Meditech Co., Ltd, (Pekín, China). SIN011 Éster metílico del ácido (3aR,4S,7aR)-octahidro-4-hidroxi-4 [2-(3-metilfenil)etilil]-1H-indol-1-carboxílico, (AFQ056, Mavoglurant)) era de Sv chembiotech, Edmonton, Canadá.

Las estructuras de todos los compuestos se confirmaron por H¹-RMN y la pureza fue > 97 %. SIN011 se suspendió en hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC) al 0,5 % en agua destilada y SIN008 en 2-hidroxipropilciclodextrina al 20 % en agua destilada, y SIN017, SIN013 y SIN014 en Tween80 al 0,3 % en solución salina. Los compuestos suspendidos en el vehículo se sonicaron durante 15 minutos con el fin de obtener una suspensión estable.

Administración de los compuestos. Los compuestos se administraron por vía oral (p.o.) mediante catéteres colocados en el estómago. La cantidad de soluciones fue de 0,2 ml/rata y 0,1 ml/ratón.

La inducción del accidente cerebrovascular se realizó como en el Ejemplo 1 para ratas y como en el Ejemplo 2 en ratones. La evaluación de la función neurológica se realizó como en el Ejemplo 1 para ratas y como en el Ejemplo 2 para ratones. Los animales se perfundieron y se inmunotifieron como en el Ejemplo 1, y el tamaño del infarto se evaluó como en el Ejemplo 1.

15 *Resultados*

El tratamiento con SIN008 (ADX48621, dipraglurant, 30 mg/kg p.o. en solución de 2-hidroxipropilciclodextrina al 20 %; n=4) o vehículo (n=7) durante 5 días mejoró significativamente la función neurológica cuando el tratamiento comenzó 2 días después del accidente cerebrovascular en la rata, Figura 3A.

El efecto de la administración diaria de SIN 011 (mavoglurant) (30 mg/kg p.o.) o vehículo (HPMC al 0,5 %) a ratones, sobre la función de colocación de las patas después del accidente cerebrovascular se muestra en la figura 3B. El tratamiento comenzó 2 días después del accidente cerebrovascular y continuó durante 5 días. No se observó recuperación en el grupo de vehículo (n=5), mientras que se observó una recuperación significativa de la función de las patas en el grupo de tratamiento (n=5) (p<0,01, Mann-Whitney).

La Figura 3C muestra el efecto de la administración de SIN013 (CTEP) (2 mg/kg cada 48 h (SIN013(l) (n=5) o 2 mg/kg diariamente SIN013(h) (n=7)) o vehículo (n=4). Los tratamientos comenzaron 2 días después del accidente cerebrovascular y continuaron durante 5 días. Si bien no se observó ninguna mejora en la función de las patas en el grupo tratado con vehículo, ambos paradigmas de tratamiento proporcionan una mejora de la función, que fue significativa en el régimen de dosis diaria de 2 mg/kg (p<0,05, Kruskal-Wallis). La mejora de la recuperación después del accidente cerebrovascular por SIN013 en el ratón, Figura 3C, se confirmó en el modelo de accidente cerebrovascular en rata, Figura 3D. El tratamiento con SIN013 (2 mg/kg/día p.o. en Tween80 al 0,3 % en solución salina, n=8) durante 5 días mejoró significativamente la función de colocación de las patas en comparación con el grupo de vehículo (n=11). El tratamiento se inició 2 días después del accidente cerebrovascular y continuó durante 5 días. En ratas KO para mGluR5 (n=3) no se observó la recuperación estimulada por el tratamiento con SIN013 y el déficit fue similar al de las ratas de tipo salvaje tratadas con vehículo. Esto confirma la evidencia (figura 2D) de que el efecto estimulante de los NAM de mGluR5 sobre la recuperación de la función cerebral perdida después de un accidente cerebrovascular está mediado por el receptor mGluR5.

El tratamiento de ratones con SIN014 (basimglurant, RG7090; (l) 5 mg/kg p.o. y (h) 10 mg/kg p.o. en Tween al 0,3 % en solución salina) durante 5 días mejoró la recuperación funcional en la dosis más alta (10 mg/kg), Figura 3E.

El tratamiento diario durante 5 días con SIN017 (3 mg/kg en HPMC al 0,5 %, p.o. (n=3)) (STX107) también mejoró la recuperación de la función perdida en el ratón en comparación con el grupo de vehículo (n=4), Figura 3F. El tratamiento con SIN017 comenzó 2 días después del accidente cerebrovascular.

50 **Ejemplo 4. El efecto de los NAM de mGluR5 no alquinos, SIN010 y SIN015 sobre la recuperación funcional después de un accidente cerebrovascular**

Procedimiento experimental

Los animales fueron como en los Ejemplos 1 y 2.

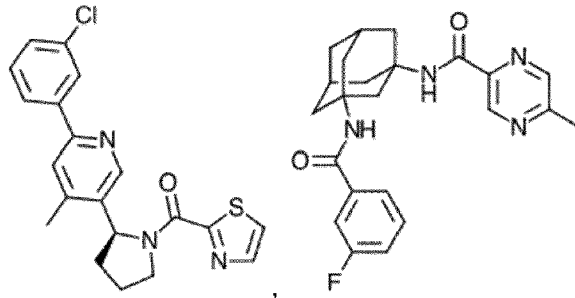
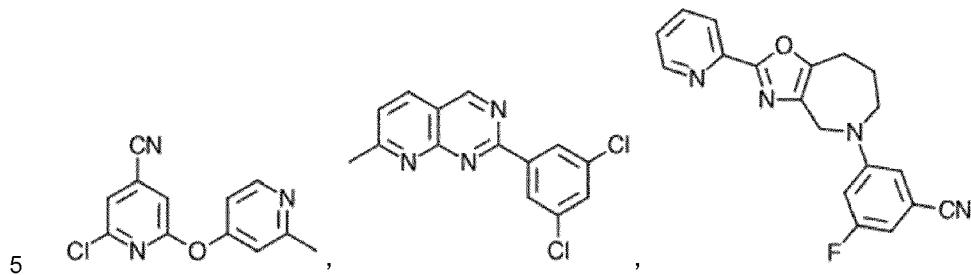
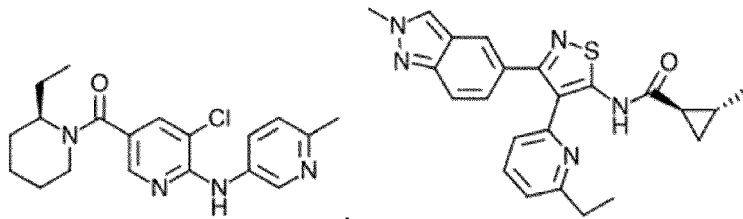
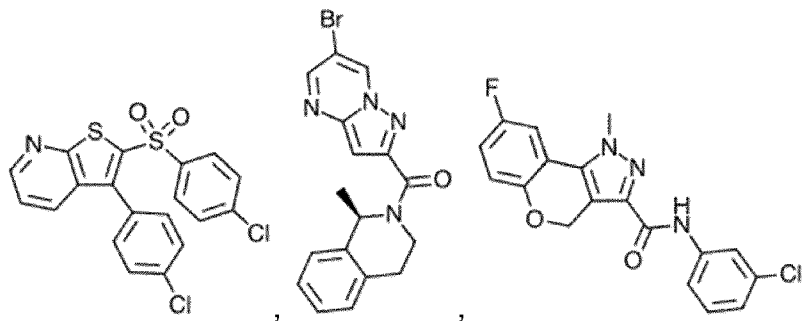
SIN 010 [1-(3-clorofenil)-3-(3-metil-5-oxo-4H-imidazol-2-il)urea, fenobam] y SIN015 [3-fluoro- 5-(3-(5-fluoropiridin-2-il)-1,2,4-oxadiazol-5-il)benzotrilo] fueron sintetizados por Beijing Honghui Meditech Co., Ltd, (Pekín, China). Las estructuras de todos los compuestos se confirmaron por H¹-RMN y la pureza fue >97 %. SIN10 se suspendió en 2-hidroxipropilciclodextrina al 20 % y SIN015 en HPMC al 0,5 %. Los compuestos suspendidos en el vehículo se sonicaron durante 15 minutos con el fin de obtener una suspensión estable.

La administración de los compuestos se realizó como en el Ejemplo 3.

La inducción del accidente cerebrovascular, la evaluación de la función neurológica, la perfusión de los animales, la inmunotinción y la evaluación del tamaño del infarto se realizaron como en el Ejemplo 1.

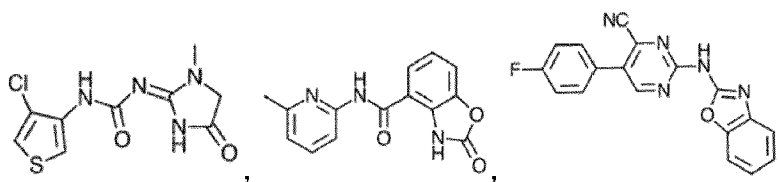
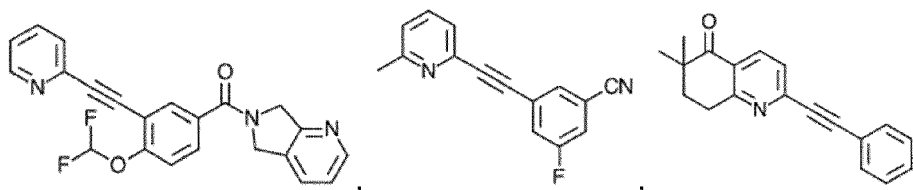
Resultados

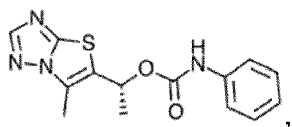
- 5 SIN010 (fenobam) administrado diariamente p.o. (10 mg/kg p.o., n=12) durante 5 días (SIN010(1 s), n=8) o durante 12 días (SIN010(2s), n=4, (Vh, n=4) mejora la función de recuperación después de un accidente cerebrovascular en la rata, Figura 4A. El tratamiento se inició 2 días después del accidente cerebrovascular. Se observó una mejora de la función dependiente del tiempo que fue significativa después de 12 días de tratamiento en comparación con el vehículo. Se observa una mejora similar en ratones sometidos a un accidente cerebrovascular que se tratan con SIN010 comenzando dos días después del accidente
- 10 cerebrovascular, figura 4B. Además, la combinación de alojamiento enriquecido (n=5) con tratamiento diario con SIN010 en ratones 2 días después del accidente cerebrovascular mejora aún más la recuperación en comparación con el tratamiento con Vh (n=5), EE solo (n=7) o SIN010 (n=5) solo, figura 4B. (a) denota $p < 0,05$ Vh frente al tratamiento con SIN010, (b) tratamiento con SIN010 + EE frente a Vh, (c) tratamiento con SIN010 + EE frente a SIN010 solo. Este resultado es similar al encontrado en el ratón tratado con SIN007 en
- 15 combinación con alojamiento enriquecido, figura 2F, lo que sugiere fuertemente un efecto aditivo del tratamiento de combinación. SIN 015, 3-fluoro-5-(3-(5-fluoropiridin-2-il)-1,2,4-oxadiazol5-il)benzotrilo proporcionado en una dosis de 3 mg/kg (n=4) durante 5 días, comenzando 2 días después del accidente cerebrovascular, mejoró la recuperación de la función, Figura 4C.



10 y sales y solvatos farmacéuticamente aceptables del mismo.

3. El NAM para su uso según la reivindicación 1, en donde dicho NAM se selecciona del grupo que consiste en:

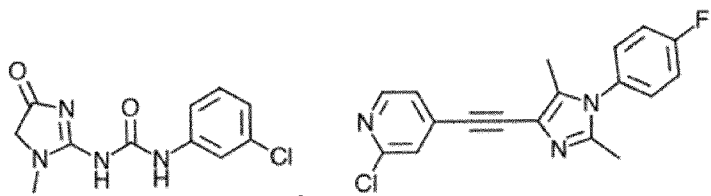




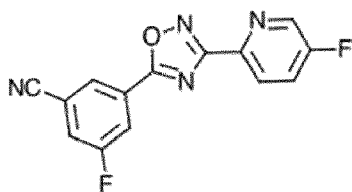
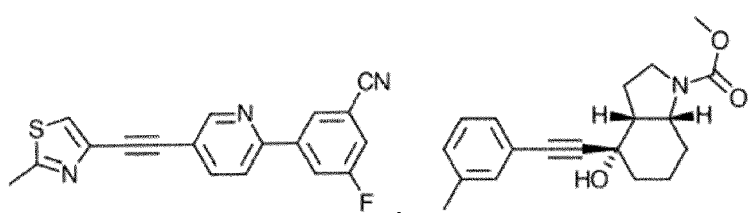
y sales y solvatos farmacéuticamente aceptables del mismo.

5

4. El NAM para su uso según la reivindicación 1, en donde dicho NAM se selecciona del grupo que consiste en:



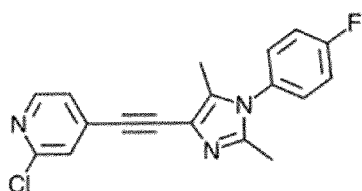
10



15

y sales y solvatos farmacéuticamente aceptables del mismo.

5. El NAM para su uso según la reivindicación 1, en donde dicho NAM es



20

y sales y solvatos farmacéuticamente aceptables del mismo.

6. El NAM para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en donde dicho tratamiento debe iniciarse una vez que un tratamiento neuroprotector ya no sea efectivo.

25

7. El NAM para su uso según la reivindicación 6, en donde dicho tratamiento debe iniciarse una vez finalizado el tratamiento neuroprotector.

30

8. El NAM para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en donde dicho tratamiento debe iniciarse no antes de 4 horas después de que se haya producido el daño cerebral agudo inicial.

9. El NAM para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1-8, en donde el tratamiento se combina con estimulación magnética transcraneal, estimulación eléctrica y/o terapias físicas y conductuales.

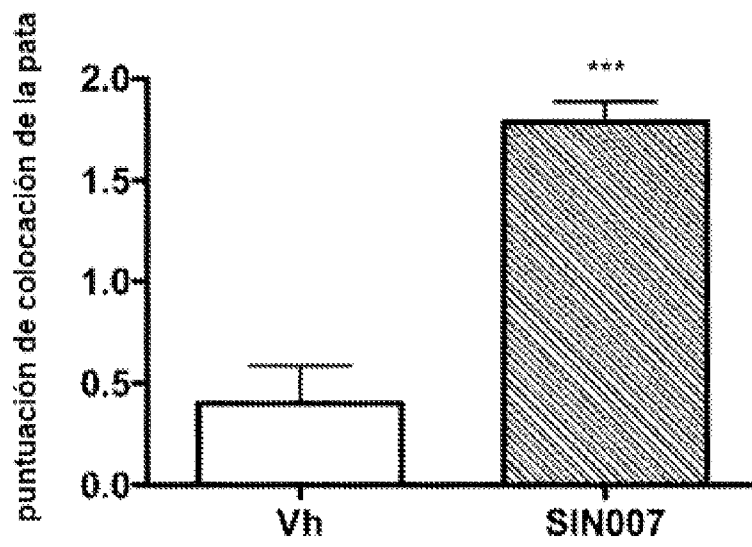


Fig. 1A

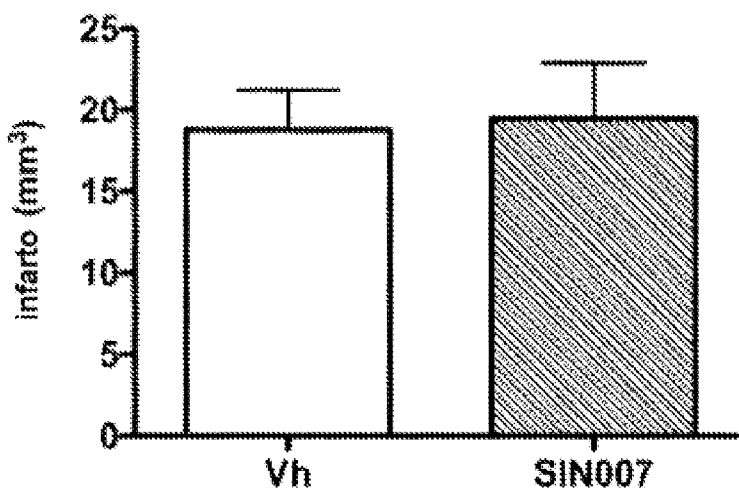


Fig. 1B

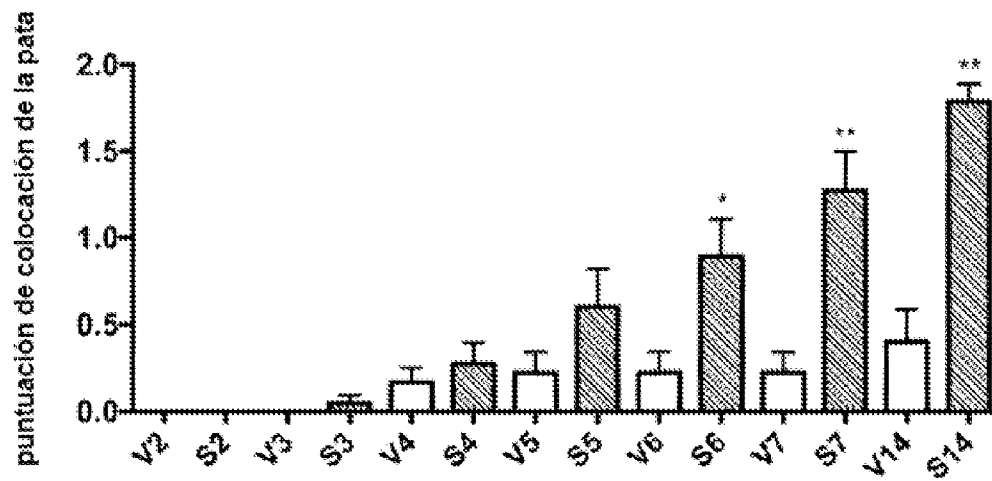


Fig. 1C

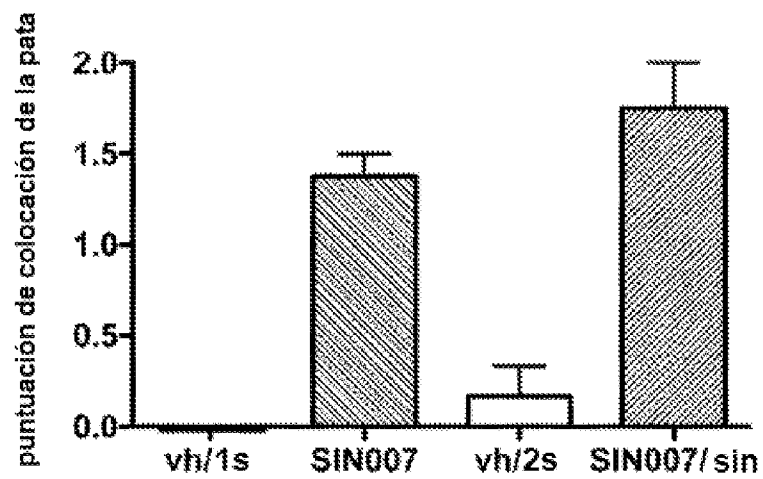


Fig. 1D

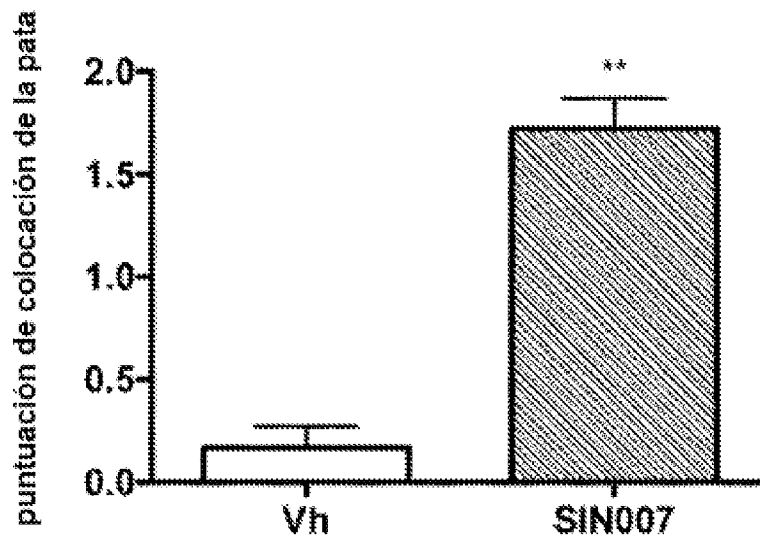


Fig. 2A

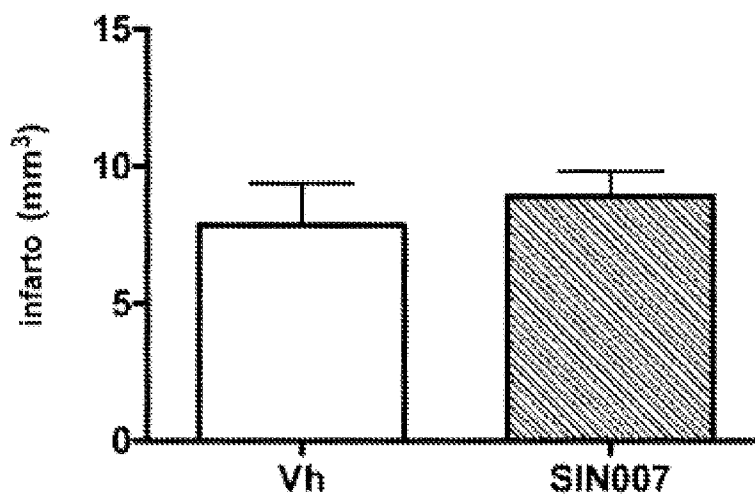


Fig. 2B

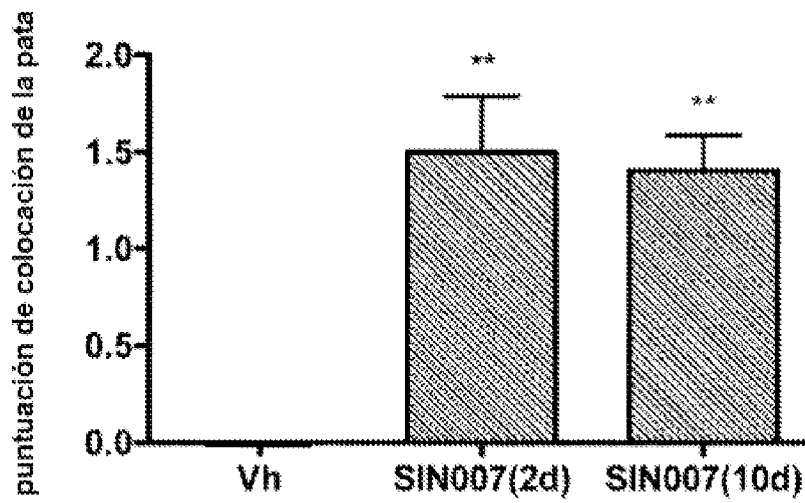


Fig. 2C

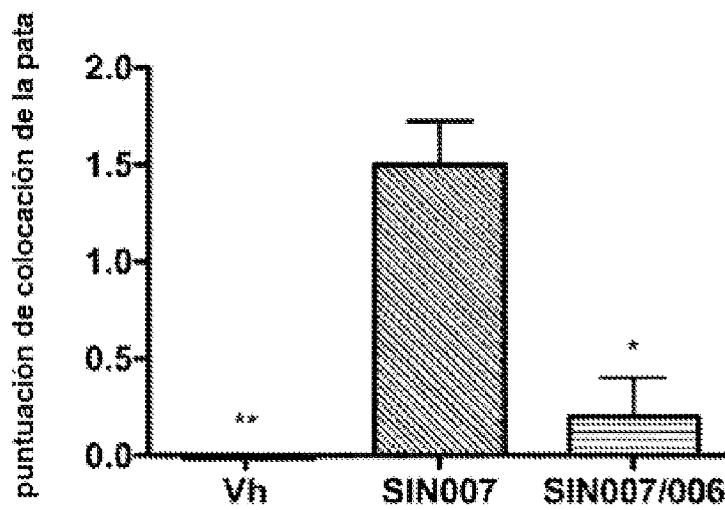


Fig. 2D

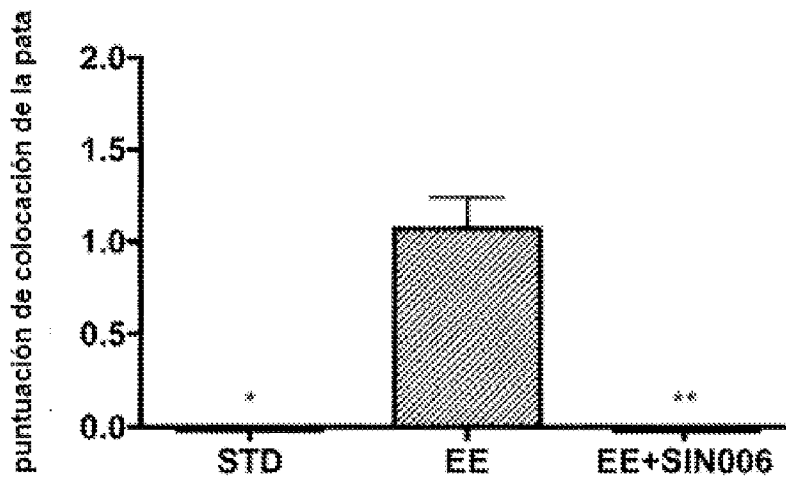


Fig. 2E

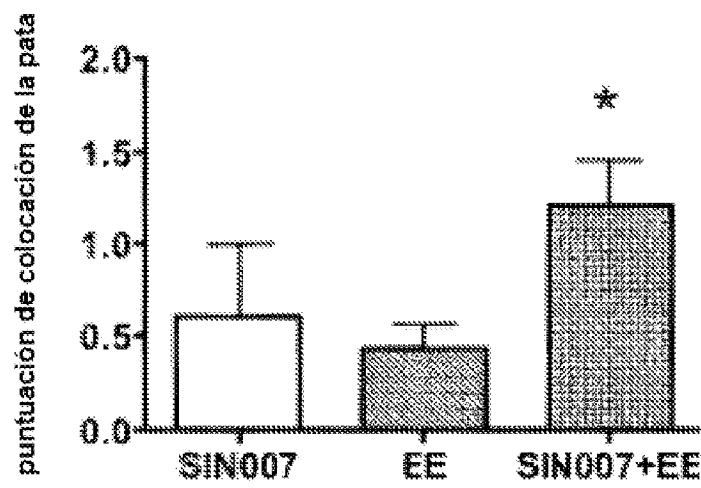


Fig. 2F

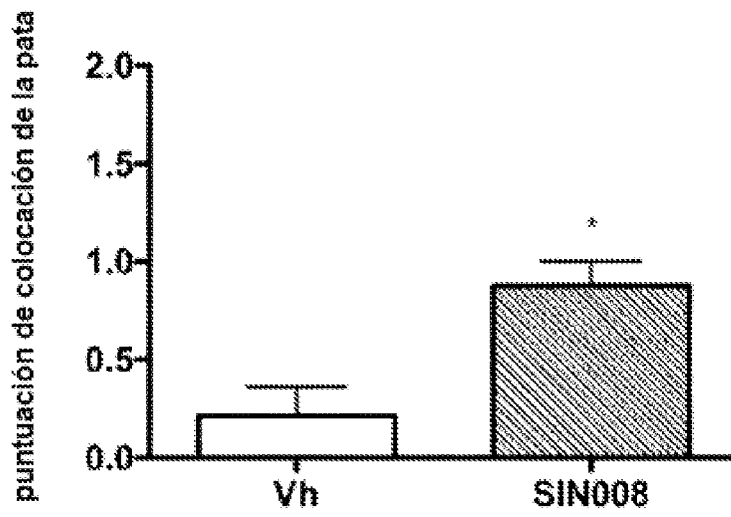


Fig. 3A

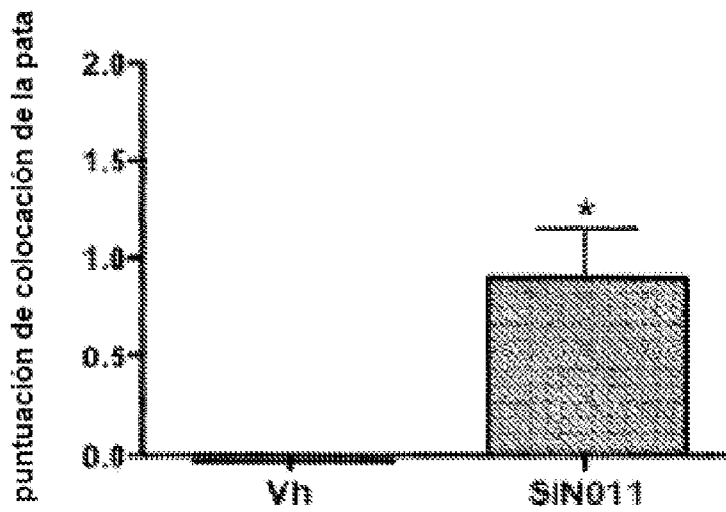


Fig.3B

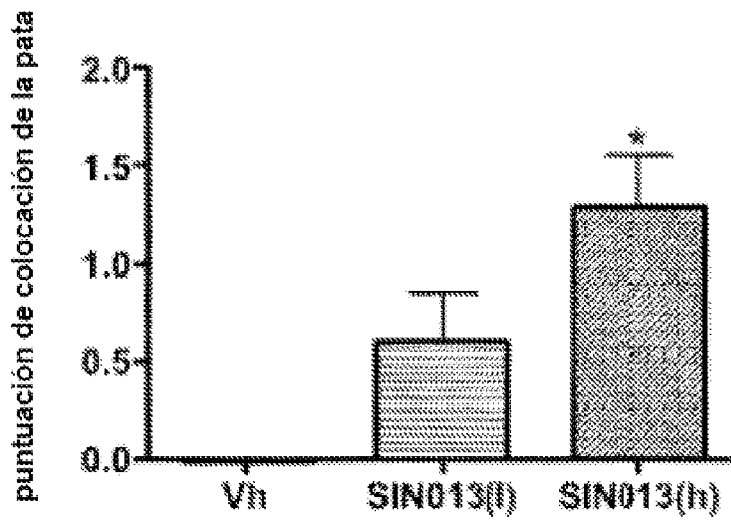


Fig. 3C

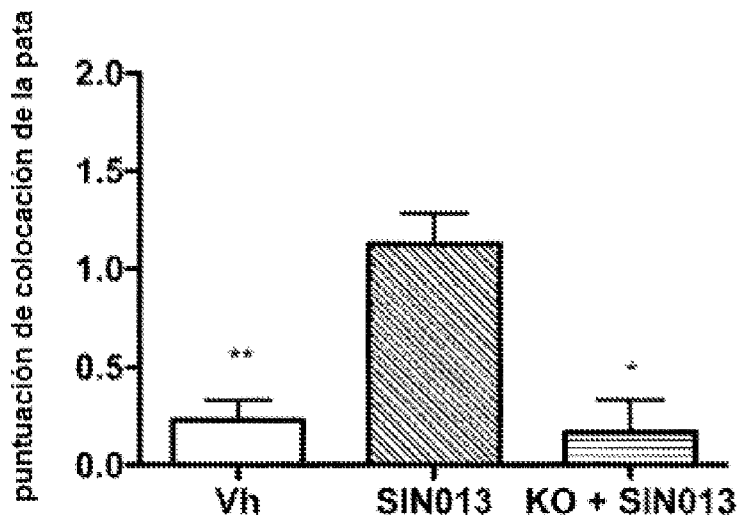


Fig. 3D

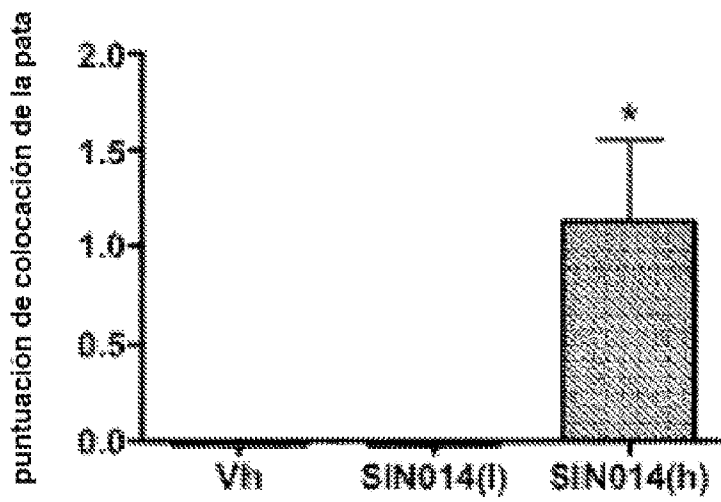


Fig. 3E

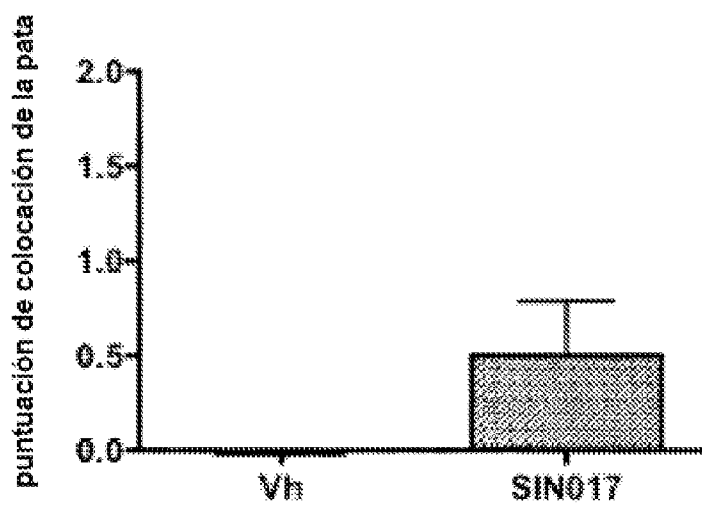


Fig. 3F

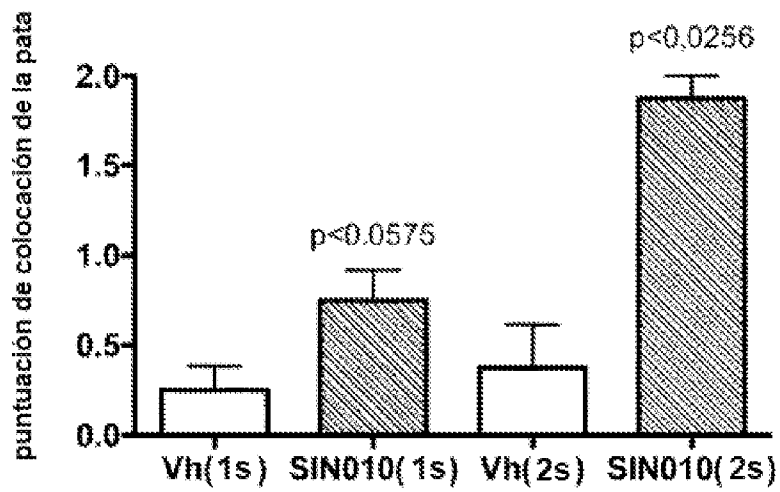


Fig. 4A

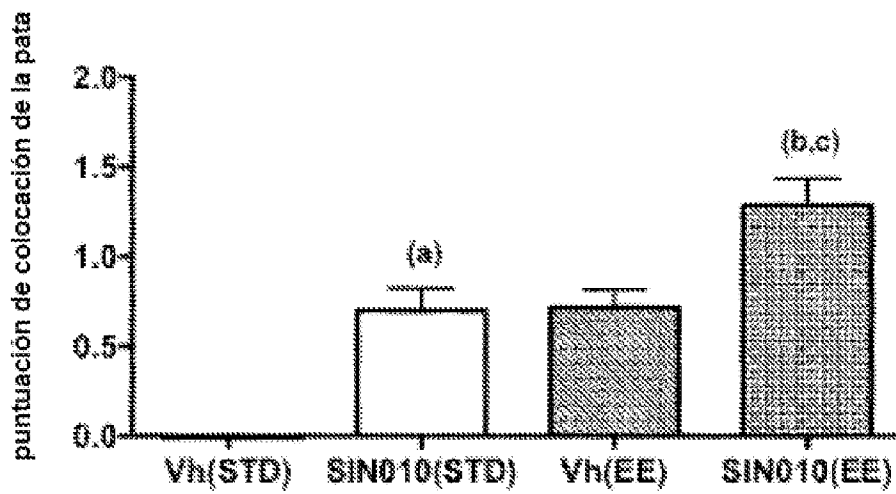


Fig. 4B

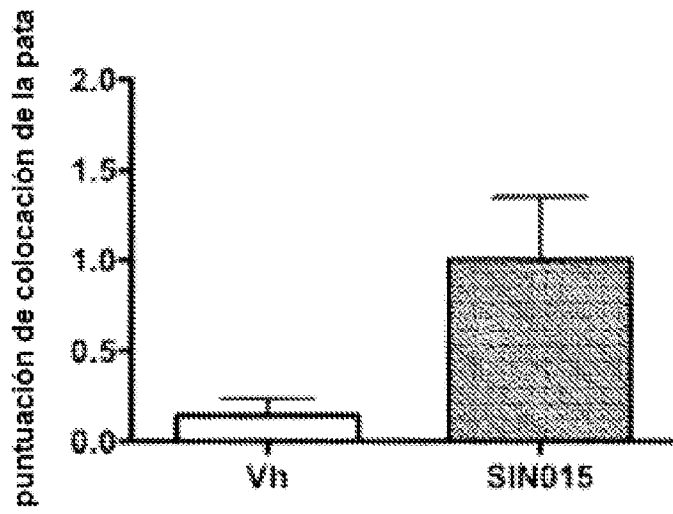


Fig. 4C